



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de la  
raíz de *Ranunculus praemorsus* H.B.K ex DC, en  
lesiones inducidas en ratas**

**TESIS**

Para optar el Grado Académico de Magíster en Farmacología con  
mención en Farmacología Experimental

**AUTOR**

Lurdes Bertha CONDORI HUANCACURI

**ASESOR**

Jorge Luis ARROYO ACEVEDO

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Condori L. Efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Ranunculus praemorsus* H.B.K ex DC, en lesiones inducidas en ratas [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2018.

---



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
Universidad del Perú. Decana de América  
Facultad de Farmacia y Bioquímica  
UNIDAD DE POSGRADO



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR  
AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN FARMACOLOGÍA CON MENCIÓN EN FARMACOLOGÍA  
EXPERIMENTAL**

Siendo las 12:00 hrs. del 14 de mayo de 2018 se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Examinador y Calificador de tesis, presidido por el Dr. Américo Jorge Castro Luna e integrado por los siguientes miembros: Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (Asesor), Dr. Víctor Luis Izaguirre Pasquel, Dr. Yovani Martín Condorhuamán Figueroa y la Dra. Karim Lizeth Jiménez Aliaga; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"EFECTO CICATRIZANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA RAÍZ DE *Ranunculus praemorsus* H.B.K ex DC, EN LESIONES INDUCIDAS EN RATAS"**, presentada por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica **LURDES BERTHA CONDORI HUANCACURI**.

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magíster en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por la graduando.

A continuación el Jurado Examinador y Calificador de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

*Diecinueve (19) MUY BUENO*

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue a la Bachiller en Farmacia y Bioquímica **LURDES BERTHA CONDORI HUANCACURI**, el Grado Académico de Magíster en **Farmacología con Mención en Farmacología Experimental**.

Siendo las 17:10 hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las 17:20 hrs. del 14 de mayo de 2018.

Dr. Américo Jorge Castro Luna (P.P., D.E.)  
Presidente

Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo (P.P., T.C.)  
Miembro - Asesor

Dr. Víctor Luis Izaguirre Pasquel (P.P., T.C.)  
Miembro

Dr. Yovani Martín Condorhuamán Figueroa (P. Aux., T.C.)  
Miembro

Dra. Karim Lizeth Jiménez Aliaga (P. Asoc., D.E.)  
Miembro

Observaciones:

***A Dios,***

*Bondad y Principio de toda mi vida, gracias por darme la oportunidad de  
vivir en este mundo maravilloso que has creado estoy agradecida  
eternamente.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A mis profesores de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en especial a mi asesor Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo, de quienes he recibido sus conocimientos durante mi formación profesional y realizar el presente trabajo de investigación.*

*A los Miembros del jurado:*

*Dr. Américo Jorge Castro Luna*

*Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo*

*Dr. Víctor Luis Izaguirre Pasquel*

*Dr. Yovani Martin Condorhuamán Figueroa*

*Dra. Karin Lizeth Jiménez Aliaga*

*Por sus valiosos sugerencias y recomendaciones en la elaboración final del presente trabajo de investigación.*

*De igual manera agradezco a los pobladores de la comunidad de Huayrapampa Departamento de Apurímac del Perú, por su ayuda al brindarme sus conocimientos ancestrales.*

***A mi esposo José Orlando e hija Claudia.***

*Mis amores especiales , por llenar de alegría  
mi vida, ser aliento constante y perseverante  
para culminar el trabajo de Investigación.*

*A mis, hermanas, **Saturnina, Beatriz, Luzmila, Celia,** y mi  
**sobrino Edison** por sus apoyos inagotables y constantes aportes.*

*A la memoria de mis **padres Adrián y Anita,** con infinito  
amor, porque sus recuerdos y sabios consejos han  
Iluminado mi camino en cada momento de mi vida...siempre  
serán mis buenas estrellas.*

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>RESUMEN.....</b>	<b>VII</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>VIII</b>
<b>CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Situación problemática.....	1
1.2 Formulación del problema.....	2
1.3 Justificación teórica.....	2
1.4 Justificación práctica.....	3
1.5 Objetivos.....	4
1.5.1 Objetivo general.....	4
1.5.2 Objetivos específicos.....	4
1.6 Hipótesis.....	4
<b>CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>5</b>
2.1 Antecedentes de investigación.....	5
2.2 Bases teóricas.....	8
2.2.1 Características de la familia y género .....	8
2.2.2 Composición química de la familia Ranunculaceae.....	9
2.2.3 Actividad farmacológica de la familia Ranunculaceae.....	10
2.2.4 Estudio de la planta.....	11
2.2.5 Clasificación taxonómica.....	12
2.3 Estudio farmacológico y toxicológico.....	13



2.3.1 Cicatrización.....	13
2.3.2 Estudio toxicológico.....	14
2.4 Marco conceptual o glosario.....	15
<b>CAPÍTULO III METODOLOGÍA.....</b>	<b>18</b>
3.1 Tipo de investigación.....	18
3.2 Diseño de investigación .....	18
3.3 Unidad de análisis.....	18
3.4 Muestra de animales de experimentación.....	18
3.5 Método de estudio.....	18
3.5.1 Material biológico, laboratorio, equipos y reactivos.....	18
3.5.2 Recolección de la especie y estabilización.....	19
3.5.3 Preparación del extracto hidroalcohólico.....	20
3.5.4 Estudio fitoquímico preliminar.....	22
3.6 Determinación del efecto cicatrizante.....	24
3.6.1 Materiales biológicos, instrumentos quirúrgicos y otros.....	24
3.6.2 Método de lesión inducida en el lomo de ratas.....	24
3.6.3 Diseño experimental.....	25
3.6.4 Procedimiento.....	25
3.6.5 Método de medición.....	26
3.6.6 Determinación de la concentración y dosis efectiva media de efecto cicatrizante vía tópica y oral con el extracto de la planta.....	26
3.7 Evaluación de la toxicidad aguda.....	27
3.8 Análisis estadístico.....	27
3.9 Consideraciones éticas.....	28

<b>CAPÍTULO IV RESULTADOS.....</b>	<b>29</b>
<b>CAPÍTULO V DISCUSIÓN.....</b>	<b>41</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>44</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>45</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>46</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>58</b>

## TABLAS

Pág.

<b>Tabla 1.</b> Pruebas de solubilidad en el extracto hidroalcohólico de la especie <i>Ranunculus praemorsus</i> H.B.K. ex DC.....	29
<b>Tabla 2.</b> Screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de <i>Ranunculus praemorsus</i> H.B.K. ex DC.....	30
<b>Tabla 3. A</b> Efecto cicatrizante de <i>Ranunculus praemorsus</i> sobre modelo incisión de herida circular por vía tópica.....	39
<b>Tabla 3. B</b> Efecto cicatrizante de <i>Ranunculus praemorsus</i> sobre modelo incisión de herida circular por vía oral.....	40

## FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Recolección del material vegetal en el anexo de Huayrapampa del Departamento de Apurímac.....	20
<b>Figura 2.</b> Flujograma de la obtención del extracto hidroalcohólico de <i>Ranunculus praemorsus</i> H.B.K ex DC. “Waranjansi”.....	21
<b>Figura 3.</b> Flujograma de partición del extracto hidroalcohólico de <i>Ranunculus praemorsu</i> H.B.K ex DC. “Waranjansi”.....	23
<b>Figura 4.</b> Identificación preliminar de metabolitos secundarios presentes en las Fracciones (1 a 5) y (M) en CCF(silicagel G60 F <sub>254</sub> ).....	31
<b>Figura 5.</b> Base de crema (BC): suero fisiológico 2mL vía oral y tópica crema base sin principio activo.....	32
<b>Figura 6.</b> Extracto de <i>Ranunculus praemorsus</i> de 10 mg/kg vía oral y tópica al 1% en crema.....	32
<b>Figura 7.</b> <i>Ranunculus praemorsus</i> de 50 mg/kg vía oral y tópica al 5% en crema.....	33
<b>Figura 8 .</b> Extracto de <i>Ranunculus praemorsus</i> . de 100 mg/kg vía oral y tópica al 10% en crema.....	33
<b>Figura 9.</b> Sangre de grado vía oral 160 mg/kg.....	34

<b>Figura 10.</b> Extracto de <i>Ranunculus praemorsus</i> de 200 mg/kg vía oral y tópica al 20% en crema .....	34
<b>Figura 11.</b> Sangre de grado en solución al 95% por vía tópica.....	35
<b>Figura 12.</b> Extracto hidroalcohólico de <i>Ranunculus praemorsus</i> por vía tópica (extracto total) .....	35
<b>Figura 13.</b> Concentración efectiva media (CEM) del extracto hidroalcohólico de <i>Ranunculus praemorsus</i> al 11vo día .....	36
<b>Figura 14.</b> Dosis efectiva media (DEM) del extracto hidroalcohólico de <i>Ranunculus praemorsus</i> al 11vo día.....	36
<b>Figura 15.</b> Estudio histopatológico del hígado tinción con hematoxilina y eosina (HE) - 100X y 400X .....	37
<b>Figura 16.</b> Estudio histopatológico del riñón tinción con hematoxilina y eosina (HE) - 100X .....	38

## ABREVIATURAS

MINSA	Ministerio de Salud
ADN	Ácido desoxirribonucleico
A/O	Emulsión agua en aceite
O/A	Emulsión aceite en agua
m.s.n.m.	Metro sobre el nivel del mar
EtOH	Etanol
H <sub>2</sub> O (d)	Agua destilada
°C	Grados centígrados
AcOEt	Acetato de etilo
MeOH	Metanol
EtOH	Etanol
mg	Miligramos
kg	Kilogramos
nm	Nanómetro
FeCl <sub>3</sub>	Tricloruro férrico
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
CCF	Cromatografía en capa fina
DEM	Concentración efectiva media
DEM	Dosis efectiva media
mm <sup>2</sup>	Milímetros cuadrados

## RESUMEN

Se realizó el estudio de la especie *Ranunculus praemorsus* H.B.K. ex DC. Waranjansi, se le atribuye el efecto cicatrizante. **Objetivo:** Demostrar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de *Ranunculus praemorsus* H.B.K. ex DC, en lesiones inducidas en ratas. **Diseño:** Experimental. Lugar: Facultad de Medicina y de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. **Material biológico:** extracto, ratas y ratones albinas. **Intervenciones:** Estudio fitoquímico preliminar, lesiones y toxicidad.

Para la actividad cicatrizante se preparó concentraciones de 1%, 5%, 10%, 20%, dosis vía oral 10 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg respectivamente, grupo patrón *Croton Lechleri Muell* al 95%, 160 mg/kg, y grupo control “crema base”. Al 11vo día se tomaron fotografías de las heridas en dichas imágenes fotográficas se usó el planímetro para medir el área de la reducción de las heridas, permitiendo el cálculo del área de curación de heridas y los anatomopatológicos evidenciaron el efecto cicatrizante. Evaluación toxicológica a dosis límite del extracto en ratones, no causó mortalidad a la dosis máxima de 2000 mg/kg de peso. **Resultados:** se identificó alcaloides, triterpenos, esteroides y flavonoides. El tratamiento con mayor eficacia fue el extracto total por vía tópica 36.33%, seguido de concentración al 20% vía tópica y dosis de 200 mg/kg vía oral fue de 31.33%, en comparación con el grupo patrón *Croton lechleri Muell* que fue de 40.66% ( $p < 0.05$ ). **Conclusión:** Se demostró el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico por vía tópica en ratas y se evaluó la toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg, no se produjo mortalidad.

**Palabras clave:** *Ranunculus praemorsus*, waranjansi, cicatrizante, toxicidad, Abancay.

## SUMMARY

The study of the species *Ranunculus praemorsus* H.B.K. ex DC Waranjansi, is credited with the healing effect. Objective: To demonstrate the healing effect of the hydroalcoholic extract of *Ranunculus praemorsus* H.B.K. ex DC, in lesions induced in rats. Experimental design. Place: Faculty of Medicine and Pharmacy and Biochemistry, National University of San Marcos, Lima, Peru. Biological material: albino extract, rats and mice. Interventions: Preliminary phytochemical study, injuries and toxicity.

For the healing activity, concentrations of 1%, 5%, 10%, 20%, oral dose 10 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg respectively, patron group Croton Lechleri were prepared Muell 95%, 160 mg/kg, and control group "base cream". On the 11th day, photographs were taken of the wounds in these photographic images. The planimeter was used to measure the area of wound reduction, allowing the calculation of the wound healing area and the anatomopathological evidences of the healing effect. Toxicological note at limit dose of the extract in mice, did not cause mortality at the maximum dose of 2000 mg/kg of weight. Results: alkaloids, triterpenes, steroids and flavonoids were identified. The most effective treatment was the total extract via topical 36.33%, followed by 20% concentration via topical and 200 mg/kg orally It was 31.33%, compared to the group Croton lechleri Muell that was of 40.66% ( $p < 0.05$ ). Conclusion: The healing effect of the hydroalcoholic extract was shown topically in rats and the acute toxicity was evaluated at a dose limit of 2000 mg/kg, no death occurred.

**Key words:** *Ranunculus praemorsus*, waranjansi, cicatrizant, toxicity, Abancay.



## **CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Situación problemática**

Cada año en el mundo 100 millones de pacientes adquieren cicatrices (Bayat, *et al.*, 2003) ya sea por quemaduras, intervenciones quirúrgicas, ruptura de tejidos y por accidentes de diferente índole, que requieren de un tratamiento efectivo y rápido lo que hace a la cicatrización de heridas un desafío terapéutico. Muchas de las comunidades científicas y médicas siguen buscando la forma para mejorar el cuidado de las heridas. Con el tiempo, los humanos parecen haber intentado todo dentro de su alcance inmediato en el esfuerzo loable para promover la curación de heridas. Sería imposible hacer referencia a todas las sustancias orgánicas e inorgánicas y los procedimientos que se han empleado durante los siglos. Incluso en los tiempos modernos, la búsqueda de agentes de curación efectivos sigue siendo aún un misterio científico (Wanda, *et al.*, 2004), principalmente porque la cicatrización es un proceso complejo que incluye un sin número de eventos que resultan de la interrelación de diferentes estructuras celulares. Esta se inicia con una respuesta inmunológica que se amplifica y tiende a evitar que las heridas tengan complicaciones posteriores, adicionalmente, por quimioatracción favorece otros mediadores que en fases siguientes como son la inflamación, la proliferación celular y la reepitelización, conducen al cierre de la herida (Jurjus, *et al.*, 2007).

En el Perú según el informe de vigilancia epidemiológica son más frecuentes las infecciones de herida operatoria y otros (infecciones de sitio quirúrgico) por colecistectomía y hernioplastía inguinal en el servicio de cirugía (Navarro, 2012) y las enfermedades de la piel presentan una relativa alta incidencia en nuestro país, tal es así que ocupa el décimo lugar de morbilidad por consulta externa de todas las enfermedades de acuerdo a las estadísticas del Ministerio de Salud (MINSA, 2005). Las

infecciones de heridas operatorias es problema de salud pública en el mundo, particularmente en países en vías de desarrollo (Haley, *et al.*, 1985) y las enfermedades asociadas a la piel con un incremento en la morbilidad y mortalidad y aun exceso de costos del cuidado de la salud (MINSA, 2005).

## 1.2 Formulación del problema

¿La aplicación del extracto hidroalcohólico de *Ranunculus praemorsus* H.B.K. ex DC, tendrá efecto cicatrizante en lesiones inducidas en ratas?

## 1.3 Justificación teórica

El uso de plantas medicinales ha hecho posible el aislamiento y caracterización de principios activos con interés farmacológico y hoy en día hay sustancias químicas derivadas de plantas que son considerados como drogas importantes e ingredientes en la industria farmacéutica (Wang, *et al.*, 2013).

En los últimos 20 años se ha reportado, sobre las plantas medicinales, que han mostrado propiedades terapéuticas como la cicatrización de heridas en diferentes modelos de experimentación y los principios activos contenidos en los extractos de la planta con actividad antimicrobiana, antioxidante y mitogénica, angiogénesis, mejorando la producción de colágeno y aumentando la síntesis de ADN. Idealmente los extractos de las plantas participan o interfieren en uno o más fases de la cicatrización. La presencia de los metabolitos secundarios obtenidos de las plantas medicinales como los alcaloides, hidratos de carbono, terpenos, diterpenos, glucósidos, sequiterpenos, fitoesteroles, compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, saponinas ligninas y aceites esenciales, podrían ser responsables de la actividad terapéutica y/o farmacológica (Ghosh, *et al.*, 2013).

Una de las actividades más conocidas: de los alcaloides en la curación de heridas podría estar relacionado con la estimulación de la quimiotaxis de

fibroblastos lo cual acelera el proceso de cicatrización de las heridas (Vaisberg, *et al.*, 1989; Risco, *et al.*, 2005).

Los flavonoides entre otros compuestos presentes en las plantas medicinales estimulan el crecimiento de las células epiteliales y la formación de fibras colágenas necesarias en el proceso de la cicatrización (Martínez, *et al.*, 2003) y la inhibición de la peroxidación lipídica por efecto de flavonoides aumenta la viabilidad de las fibrillas de colágeno y la prevención del daño celular (Getie, *et al.*, 2002; Shetty, *et al.*, 2008). Los polifenoles (taninos) ayudan a formar complejos con proteínas y polisacáridos; de esta forma contribuyen a la curación de heridas y quemaduras formando una película de polifenoles asociados a las proteínas o a los polisacáridos y por debajo de esta asociación ocurre el proceso natural de cura. Esta afinidad de los polifenoles desempeña una importante acción en la inhibición de las enzimas, impidiendo de esta manera el crecimiento de microorganismos (Haslan, 1996).

*Ranunculus praemorsus* H.B.K ex DC, conocido también como “Waranjansi”, pertenece a la familia Ranunculaceae se distribuye en todo el mundo y se compone de unos 47 géneros y 2000 especies (Brako, *et al.*, 1993; Mostacero, *et al.*, 2002), se le atribuye su propiedad medicinal y es utilizado como emplasto triturado sobre la piel, previamente lavado, para el tratamiento de heridas, quemaduras y alergia, para producir expulsión de los abscesos (Soukup, 1965; Roersch, 1994; Garcia, 1992). En el Departamento de Apurímac se le conoce con los nombres vulgares de chchapo-chchapo, huarancayzo, solimán y yerba centella. Las hojas machacadas se aplican a las uñas con micosis. (Soukup, 1970; Macbride, 1937).

#### **1.4 Justificación práctica**

Algunas de las especies que pertenecen a la familia *Ranunculaceae*, presentan actividad cicatrizante y antiinflamatorio como *Ranunculus pedatus* y *Ranunculus Constantinopolitanus* (Kupeli, *et al.*, 2012), *Ranunculus Paeonia Suffruticosa* Andr., utilizado en la medicina

tradicional china se ha descrito para cicatrización de heridas (Wang, *et al.*, 2013). Con estos antecedentes se realiza la presente investigación para ampliar el conocimiento sobre ***Ranunculus praemorsus*** H.B.K. ex DC “Waranjansi” y contribuir con la investigación de la especie.

## 1.5 Objetivos

### 1.5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de ***Ranunculus praemorsus*** H.B.K. ex DC, en lesiones inducidas en ratas.

### 1.5.2 Objetivos específicos

1. Realizar el estudio fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico ***Ranunculus praemorsus*** H.B.K. ex DC “Waranjansi”.
2. Comprobar la actividad cicatrizante en ratas del extracto de ***Ranunculus praemorsu*** administradas por vía tópica
3. Determinar la concentración efectiva media del extracto de ***Ranunculus praemorsus*** del efecto cicatrizante.
4. Determinar la dosis efectiva media del extracto de ***Ranunculus praemorsus*** del efecto cicatrizante.
5. Evaluar la toxicidad aguda en ratones del extracto de ***Ranunculus praemorsus***.

## 1.5 Hipótesis

El extracto hidroalcohólico ***Ranunculus praemorsus*** H.B.K. ex DC presenta actividad cicatrizante en ratas.

## CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes de la investigación

#### ➤ Antecedentes internacionales y nacionales.

Nikhil, *et al.*, 2017, en el Departamento de Farmacología, Colegio Nacional de Farmacia, Shivamogga – Karnataka- India. Evaluaron sobre la actividad cicatrizante del extracto etanólico de *Naravelia zeylanica* (Linn) DC, en ratas utilizando modelo de la herida por escisión. La pomada de extracto etanólico y la povidona yodada al 5% p / p en animales tratados mostraron una disminución del área de la herida día a día cuando se comparó con el control.

Salih, *et al.*, 2015, en la Universidad de Dammam Arabia Saudita en el Departamento de Dermatología del Colegio de Medicina se realizaron estudio sobre el extracto de *Nigella sativa* aplicados sobre las heridas infectadas con estafilococos en ratones mejoró la cicatrización mediante la reducción de los recuentos de leucocitos.

En conclusión la especie *Nigella sativa* indica fuertemente su acción farmacología en dermatología.

Kupeli, *et al.*, 2012, en la Universidad de Gazi – Turquía, buscó evaluar la actividad cicatrizante y antiinflamatoria de *Ranúnculos pedatus* y *Ranunculus constantinapolitanus*, utilizando incisión lineal y escisión circular de la herida para evaluar la actividad cicatrizante. Sus resultados indican que el extracto metanólico de *Ranunculus pedatus* mostró la curación de heridas de 31.4%, para incisión lineal y para escisión circular 55.74% y la actividad antiinflamatorio fue de 26.2% y 23.3%, respectivamente, a la dosis de 100 mg/kg, concluyendo que tiene efecto cicatrizante (Somashekar, *et al.*, 2007).

Shetty, *et al.*, 2008, evaluaron el efecto cicatrizante de los extractos alcohólicos y acuosos de *Ocimum Sanctum Linn* sobre heridas de incisión lineal en ratas albinas con dosis de 400 y 800 mg/kg por vía oral teniendo como resultados que el extracto acuoso posee un mejor efecto que el extracto alcohólico a una dosis de 800mg/kg ( $p < 0.05$  y  $p < 0.01$ ); como resultado se comprobó que tiene propiedades antioxidantes, que puede ser favorable para la curación más rápida de la herida, también en la curación anormal y cicatrices hipertróficas.

Shivananda, *et al.*, 2006, en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Manipal – India, comprobaron las propiedades de curación de heridas de los extractos acuosos y etanol de *Cecropia peltata L.* en heridas de ratas utilizando la escisión circular, administrando por vía tópica carboximetil celulosa al 1% y oral 150 mg/kg por día del extracto durante 10 días. Los resultados fueron que las áreas de heridas se redujeron de forma estadísticamente significativa en todos los grupos tratados en comparación con los controles respectivos ( $P < 0.05$ ), los cortes histológicos fueron consistentes en comparación con el grupo de control, finalmente el extracto de *Cecropia peltata* tiene una buena actividad cicatrizante en curación de heridas.

Juro, *et al.*, 2010, en la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco- Perú, evaluó el efecto cicatrizante de las diferentes formas farmacéuticas del extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica Diels* “Nogal” con aplicación tópica, utilizando cortes de 1 cm<sup>2</sup> en el área dorsal escapular en ratones albinos, en la primera fase del estudio se les aplicó el extracto a diferentes concentraciones (2.5% - 40%) durante 21 días, luego fueron sacrificados e inmediatamente se realizó la prueba del tensiómetro propuesto por (Vaisberg *et al.*, 1989). En la segunda fase, se formularon cinco formas farmacéuticas tópicas (pomada, emulsión agua en aceite (A/O), emulsión aceite en agua (O/A), pasta e hidrogel) las que se evaluaron según prueba del tensiómetro, en comparación al fármaco patrón (Cicatrín), indicando que la concentración mínima efectiva cicatrizante fue de 5%, correspondiéndole una eficacia de 69.40% el más

alto porcentaje mostrado, las presentaciones en emulsión O/A e hidrogel obtuvieron mayor resistencia a la fuerza de tensión, dando como resultado que el extracto hidroalcohólico al 5% como las formas farmacéuticas de emulsión O/A e hidrogel presento muy buena actividad cicatrizante.

Guillermo, *et al.*, 2005, en el Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina Humana e Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara", de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima- Perú, buscó evidenciar el efecto cicatrizante de la especie vegetal *Peperomia scutellaefolia* R. et P., siguiendo el método tensiómetrico de Vaisberg, *et al.*, (1989), en ratos norvergicus y aplicando los geles de Carbopol 940 al 5%, 10%, 20% y 30% P/P del extracto comparándose con el grupo control (sin tratamiento) y con el grupo tratado, se evidenció presencia de flavonoides derivados del núcleo de los dihidroflavonoles e isoflavonas; cicatrizacion con mayor eficacia (24.25%) fue el gel al 5% respecto a piel sana, seguido por el gel al 30% con 21.14%, el gel al 20% con 19.20%, y por el gel al 10% con 18.03%.

Soriano, *et al.*, 2004, en el Instituto de Investigación en Ciencias farmacéuticas y Recursos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima- Perú, buscó evaluar la actividad cicatrizante de *Senecio culcitoides* Weed, utilizando la incisión de 1cm de longitud de la herida en el tercio inferior del lomo de las ratas y aplicándose por vía tópica el extracto al 20% en comparación con sangre de grado al 1%; obteniéndose como resultado la presencia de compuestos fenólicos tipo flavonas y chalcona en la evaluación de la actividad cicatrizante del extracto al 20% presentó una diferencia significativa de  $P < 0.05\%$  al comprobarse con el control que es crema base, dichos resultados fueron corroborados con los cortes histológicos, concluyendo que el extracto de hojas de *Senecio culcitoides* Weed en forma tópica presenta actividad cicatrizante.

Arroyo, *et al.*,1999, en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, comprobó el efecto cicatrizante de los extractos acuosos y alcohólico de *Piper Angustifolium*, se identificaron los principios activos como flavononas, flavonas o isoflavonas; se realizó una incisión y aplicando por vía tópica dos veces al día los extractos en forma de gel, demostró mayor efecto cicatrizante en lesiones inducidas sobre la piel de ratones albinos, administrado por vía peroral, seguido por vía tópica.

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 Características de la familia y género**

Las plantas de la familia ranunculaceae se distribuye en todo el mundo y se compone de unos 47 géneros y 2000 especies que habitan en los países templados y fríos (Brako, *et al.*,1993; Mostacero, *et al.*, 2002), morfológicamente presenta plantas herbáceas anuales por lo regular con las hojas más o menos divididas; por la forma, estructura y colorido de sus flores es una de las familias más diversificadas. En general, constan de cáliz y corola de 5 piezas, cuyos sépalos y pétalos quedan libres entre sí con estambres numerosos que son libres entre sí. Los frutos son muy variables, a veces se componen de numerosos frutos secos, no abrideros y con una sola semilla, que se apiñan en una cabezuela redondeada, ovoide o más o menos prolongada. En otros casos, en condiciones secas el fruto contiene también varias semillas; cada flor trae uno o diversos frutos de esta naturaleza, llamados folículos (Molero, 1985).

El género *Ranunculus* se presenta como una planta herbácea anual o perenne de porte variable algunas veces acuática; con hojas dimorfas, hojas alternas rara vez opuestas o todas radicales, enteras, lobadas o regularmente divididas. Sus flores son de porte solitario y cimbras los sépalos son de 3-6 y los pétalos de 5-26 generalmente amarillos, a veces blancos y rara vez rojos con corolas abiertas, o también, más o menos cerradas, globosas y estambres mayores o menores a 10 a menudo más,



pocas veces menos con anteras biloculares y carpelos libres (Soukup, 1965; Millspaugh, 1974).

### **2.2.2 Composición química de la familia Ranunculaceae**

Algunas de las especies que pertenecen a la familia *Ranunculaceae* contienen alcaloides: *Consolida orientalis* tiene alcaloides norditerpénicos (Bruneton, 2001; Judit, *et al.*, 2002), *Nigella sativa* contiene alcaloides isoquinolina, y nigellicina otros como saponinas flavonoides, timohidroquinona, timol, nigellidine (Salih, *et al.*, 2015; Wesam, *et al.*, 2016) y diterpénicos (Hiang, *et al.*, 1995, De la Puente, *et al.*, 1997), *Delphinium consolida* L. que presenta alcaloides de estructura complicada como metil-licaconitina y heteratisina (Bruneton, 2001; Shahzad, *et al.*, 2012), *Ranunculus serbicus* contiene alcaloides de tipo protoberberine (Tosi, *et al.*, 1990), *Ranunculus ternatus* contiene indolopyridoquinazoline (Zhang, *et al.*, 2007), *Aconitum Napellus* uno de sus principales alcaloides es la aconitina, glucosídicos (Kuklinski, 2000; Font, 1981; Bruneton, 1993), saponinas, lactonas volátiles o ranunculósidos (Wegner, *et al.*, 2000;), flavonoides (Fiasson, *et al.*, 1997), flavonas, flavonoles (Prieto, *et al.*, 2004; Gelsomina, *et al.*, 2001), cumarinas y apigenina (Liang, *et al.*, 2008), *Naravelia zeylanica* (Linn) DC, hay presencia de fitoconstituyentes como alcaloides, flavonoides, fenólicos y terpenoides (Nikhil, *et al.*, 2017).

Muchas especies del género *Ranunculus* contienen glucósidos triterpénicos y *ranunculina*, un glucósido que se forma a través de una enzima de glucosa y protoanemonina (vesicante) el cual se descompone rápido al secar (Roersch, 1994; Grigg, *et al.*, 1997; Marston, *et al.*, 2006).

La protoanemonina es una lactona hemiterpénica, responsable de la dermatitis de contacto alérgica inducidas por diversas *Ranunculaceae*. La toxicidad observada a veces en las plantas frescas no se conserva en seco. La molécula ranunculina, procedente de la hidrólisis de un glucósido se dimeriza en anemonina (no tóxico) durante el secado (Bruneton, 2001).

### 2.2.3 Actividad farmacológica de la familia Ranunculaceae

Las actividades biológicas de las especies que pertenecen a la familia *Ranunculaceae* contienen propiedades: *Naravelia zeylanica* (Linn) DC, se ha utilizado en el tratamiento de helmintiasis, dermatopatía, heridas y reumatología (Nikhil, *et al.*, 2017), *Nigella sativa*, se usa para tratar enfermedades como la artritis, diabetes, asma, procesos inflamatorios y efectos dermatológicos (Wesam, *et al.*, 2016; Salih, *et al.*, 2015), *Hydrastis canadensis* L que contiene el alcaloide berberina con propiedades bactericidas a dosis más elevadas, que in vitro demostró ser activa frente a numerosos gérmenes (estafilococos, estreptococos y salmonelas como *Proteus*, vibriones, etc.) y es tóxica frente a diversos protozoarios (leishmanias, *Plasmodium*); también en América del norte, la infusión de raíces de *Hidrastris Canadensis* goza de una sólida reputación (no demostrada) como eficaz en el tratamiento de ulceraciones como antiinflamatorio y otras afecciones bucales (enjuagues analgésicos y cicatrizantes) (Bruneton, 2001; Nidhi, *et al.*, 2010).

*Anemona nemorosa*, se utiliza en cataplasma contra la micosis cutánea conocida como tiña (Poletti, 1982), *Aconitum napellus* L. se emplea como tintura homeopática en antirreumáticas, sedantes, antineurálgicos, cardiotónica, antiasmático y anticongestivas (Muñoz, 1996; Baudilio, 1995), para afecciones cutáneas (herpes, eczema, plurito), antiinflamatorio y reumáticas (artritis y rinitis) con tinturas homeopáticas de *Ranunculus sceleratus* L. (Font Quer, 1981; Gluchoff, *et al.*, 1996; Prieto, *et al.*, 2003), *Ranunculus Constantinopolitanus* y *Ranunculus Pedatus*, en la medicina Turca se utilizan para cicatrización de heridas, antiinflamatoria, actividad citotóxica y los componentes químicos de *Ranunculus pedatus* (Küpel, *et al.*, 2012; Erdogan, *et al.*, 2012).

*Ranunculus Paeonia Suffruticosa* Andr., utilizado en la medicina tradicional China se ha descrito para cicatrización de heridas (Wang, *et al.*, 2013). Tradicionalmente se ha utilizado en el nerviosismo, la tristeza, inquietud leve, intranquilidad mental. Sin embargo, la planta nunca ha sido objeto de investigación biológica sistemática. Por lo tanto ha sido

diseñado para evaluar la actividad anti-ansiedad de *Pulsatilla nigricans* (Goyal, et al., 2010).

*Ranunculus acris* cuyas aplicaciones medicinales es de uso externas, en el tratamiento de artritis (Sintes, 1975). *Ranunculus Praemorsus* H.B.K. *Centella*. No se debe usar en forma interna, es considerada como venenosa, pero con la debida dosis y aplicada externamente, es medicinal (Pérez, 1990).

*Clematis Campestris* se considera tóxica, pero es utilizada medicinalmente en dosis moderada para tratamiento de la piel (Dominguez, et al., 1996).

#### 2.2.4 Estudio de la planta

El género *Ranunculus* perteneciente a la familia *Ranunculaceae* se distribuye en todo el mundo, abundante en las regiones de clima templado y en las cordilleras altas. En la parte norte de Sudamérica su distribución sigue la cadena andina por el Oeste llega hasta los terrenos bajos del Este del Paraguay y Brasil (Lourteig, 1956). La especie *Ranunculus* comprende cerca de 200 especies en las regiones templadas, en el Perú está registrada 12 géneros y 24 especies (Roersch, 1994; Soukup, 1965).

La especie ***Ranunculus praemorsus*** H.B.K. ex DC. de mayor distribución en Sudamérica se encuentra en Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú y Bolivia llegando a lo largo de las cordilleras por el Sur, hasta el centro de Argentina y por el Norte hasta México (Lourteig, 1956). En el Perú se distribuye en los departamentos de Lima, Cusco, Apurímac, Puno, Junín, Cajamarca y Ancash; su área geográfica se extiende desde Bolivia hasta Colombia (Weberbauer, 1945; Roersch, 1994).

### 2.2.5 Clasificación taxonómica:

Taxonómicamente ha sido identificada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Lima- Perú).

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB-CLASE: RANUNCULIDAE

ORDEN: RANUNCULALES

FAMILIA: RANUNCULACEAE

GÉNERO: ***Ranunculus***

ESPECIE: ***Ranunculus praemorsus* H.B.K ex. DC.**

Nombre común: “Waranjansi”

#### ***Descripción morfológica de Ranunculus praemorsus H.B.K ex DC.***

Etimológicamente el nombre del género proviene del vocablo latino “*ranunculus*” diminutivo de rana en alusión a su carácter anfibio. Morfológicamente presenta las siguientes características: Es una hierba anual de crecimiento erguido que alcanza altura de hasta 1 metro es pubescente con tallos estriados, ramosos y vellosos. Las hojas son pilosas, arrosetadas muy variadas y largamente pecioladas con alturas de 2 a 3 cm con pecíolos semejantes a los tallos, lámina de ámbito ovado, 3-5 pinatisecta, con pecíolos muy cortos y las hojas superiores menores, cortamente pecioladas subsésiles con segmentos diversos e irregularmente divididos casi enteros. Las flores presentan pétalos de 10 a 12 de color amarillo brillante, pedunculadas y solitarias que están dispuestas en las axilas foliares y terminales. Los sépalos son 5 de color amarillo verdoso, ovados cóncavos y generalmente algo asimétricos. Los frutos son de capsular monospermo e indehisciente y las raíces son pivotante, profusas, fasciculadas y apretadas con más o menos 13 cm de

largo por 0,5 cm de diámetro, generalmente napiformes, alargados y gruesos (Francis,1937; Font Quer, 1981; Sintés,1975).

### **Uso de *Ranunculus Praemorsus* H.B.K. ex DC. “waranjansi”**

*Ranunculus praemorsus* H.B.K ex DC, llamada popularmente “Waranjansi”, es usada como emplasto triturado sobre la piel, previamente lavado, para el tratamiento de heridas, quemaduras, alergia, para producir expulsión de los abscesos( Soukup,1965; Roersch, 1994; García,1992).

En el Departamento de Apurímac se le conoce con los nombres vulgares de chchapo-chchapo, huarancayzo, solimán y yerba centella. Las hojas machacadas se aplican a las uñas con micosis. Los indígenas del Apurímac creen que basta oler las hojas para que se produzca una hemorragia nasal; se usa como vulneraria y rubefaciente (Soukup, 1970; Macbride,1937).

## **2.3. Estudio farmacológico y toxicológico**

### **2.3.1 Cicatrización**

La cicatrización es un proceso natural que posee la mayoría de los vertebrados para regenerar los tejidos de la dermis y epidermis que han sufrido una herida. La cicatrización cutánea es un proceso reparativo completo que conduce a la regeneración del epitelio y el reemplazo de la dermis por un tejido fibroso constituido por colágeno con características diferentes a lo normal.

En heridas cutáneas se reconoce dos tipos de cicatrización; de primera y de segunda intención que se diferencian por la cantidad de tejido dañado, intensidad del progreso de reparación y por tanto, en el tiempo en el que éste se lleva a cabo. En ambos procesos se aprecia al inicio formación de coágulo, que se mezcla con el detritus celular y se extiende en áreas dañadas, luego este coágulo sufre deshidratación y forma costra que tiene la función de aislar de las agresiones ambientales físicas y

biológicas, a los tejidos vivos y sanos de epidermis y dermis que rodean a la lesión (Trigo, 1993).

Fases de la cicatrización de heridas, comienza con la inflamación tras la lesión y dura de 2 a 6 días, es el inicio de formación de colágeno, fase proliferativa comienza después de unos días, dura de 4 a 12 semanas continúa produciendo colágeno y cierra los bordes de la herida, da inicio de forma pequeños vasos sanguíneos para ayudar la cicatrización y la fase de maduración continúa con la producción de colágeno para reforzar la herida. Luego se produce una remodelación de la cicatriz (Redroban,2012)

La epitelización es el proceso por el cual migran queratinocitos y a continuación se dividen para recubrir la pérdida de espesor parcial de piel o mucosa, el mecanismo por el cual hay una cierre espontaneo de heridas cutáneas de espesor total o construcción de órganos tubulares, como el colédoco o el esófago, después de una lesión.

El depósito de matriz de tejido conjuntivo comprende la incorporación de fibroblastos hacia el sitio de la lesión y producción de una matriz de tejido conjuntivo. Este proceso es muy importante en el cierre primario de heridas, sean de piel, tendones o anastomosis intestinal. La colágena transversal y su organización en el tejido conjuntivo que se forma en el proceso proporcionan la fuerza e integridad a todos los tejidos. (Brunicardi, *et al.*, 2010).

### **2.3.2 Estudio toxicológico**

Así como las plantas tienen el potencial curativo de ciertas dolencias y enfermedades, también poseen el potencial de producir daño, toxicidad y muerte. Por lo tanto, es de vital importancia desarrollar estudios que permitan determinar los efectos tóxicos.

Uno de los primeros estudios farmacológicos a realizar a una sustancia, producto o principio a la que se atribuye un efecto terapéutico, es la toxicidad. Toda sustancia o mezcla de sustancias a ser utilizadas en medicina no sólo deben poseer efectos terapéuticos sino además deben ser inocuas. Todo producto sintetizado o de origen natural que contengan

principios activos, pueden producir efectos no deseados a corto o largo plazo. Por ello en la elaboración de medicamentos resulta esencial seleccionar sustancias que ofrezcan un margen de seguridad adecuado. La toxicidad e inocuidad de un producto, no sólo depende de la sustancia en sí, sino también del tipo de envase con el que está en contacto, las condiciones y procedimientos empleados para su elaboración y/o dispensación (Lock, 1999). Es posible reproducir experimentalmente en animales la mayoría de los procesos tóxicos, la aplicación de dosis altas es un procedimiento útil para descubrir posibles peligros para el hombre (Repetto, *et al.*, 2009).

## 2.4 Marco conceptual o glosario

**Marcha fitoquímica preliminar.** Se desarrolla una serie de métodos para la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos en las plantas, basados en la extracción con solventes apropiados y la aplicación de pruebas de coloración.

**Detritus.** Restos que quedan de la desintegración y deterioro de vegetales y animales. Residuos de descomposición de un cuerpo. Término dado para un fragmento de material orgánico generalmente proveniente de la descomposición animal o vegetal.

**Analgesia.** La acción analgésica se define por cualquier proceso que tiene como acción reducir el dolor. Puede tratarse no sólo de un fármaco, sino de cualquier otro método para obtener analgesia, es decir, la supresión de la sensación de dolor.

**Antiinflamatorio.** El término antiinflamatorio se aplica al medicamento o procedimiento médico usado para prevenir o disminuir la inflamación (lesión y/o daño en tejidos u órganos sanos) de los tejidos.

**Hidroalcohólico.** Formado por una mezcla de agua y alcohol. Relativo o concerniente al alcohol y al agua.

**Extracto.** Un extracto es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol o agua.

**Maceración.** Es el proceso mediante el cual se consigue extraer y disolver en un líquido las sustancias activas de una planta.

**Emplastos.** Son preparados medicinales elaborados a base de plantas y hierbas medicinales enteras y son empleados en las partes externas de nuestro cuerpo en las partes donde se desea tratar.

**Cataplasma.** Medicamento de aplicación externa, de consistencia blanda y húmeda, que se coloca sobre alguna parte del cuerpo como calmante. Se obtiene mezclando harinas vegetales con un líquido que puede ser agua, una decocción, una infusión o una solución salina. Puede utilizarse calientes o fríos y son de aplicación exclusivamente externa.

**Inocuo.** Que es libre de peligro, digno de confianza, que no produce daño o injuria alguna.

**Cromatografía.** Es un método físico de separación, caracterización de los distintos componentes de una mezcla, permite identificar y determinar las cantidades de dichos componentes, separar los componentes de la mezcla, para obtenerlos más puros y que puedan ser usados posteriormente (etapa final de muchas síntesis). Medir la proporción de los componentes de la mezcla (finalidad analítica). En este caso, las cantidades de material empleadas son pequeñas.

**Metabolitos primarios.** Son muy abundantes en la naturaleza, son indispensables para el desarrollo fisiológico de la planta; se encuentran presentes en grandes cantidades y conducen a la síntesis de los metabolitos secundarios. Entre ellos se encuentran aminoácidos proteicos, proteínas, carbohidratos, lípidos, ácidos grasos, algunos ácidos carboxílicos, etc.



**Metabolitos secundarios.** Son derivados de los metabolitos primarios, pero su distribución en el reino vegetal es más limitada y para determinados compuestos queda restringida a ciertas especies. Los metabolitos secundarios son: flavonoides, terpenoides, esteroides, quinonas, alcaloides.

**Alcaloides.** Llamamos alcaloides a aquellos metabolitos secundarios de las plantas sintetizados, generalmente, a partir de aminoácidos, que tienen en común su hidrosolubilidad a pH ácido y su solubilidad en solventes orgánicos a pH alcalino. En su mayoría tienen acción fisiológica energética (medicinal o venenosa).

## CAPÍTULO III METODOLOGÍA

### 3.1 Tipo de la investigación

Fue una investigación de tipo experimental, prospectivo (consistió en la recolección de datos a medida que iban sucediendo los hechos) y longitudinal (existiendo un tiempo entre las distintas variables y se realizó más de una medición)

### 3.2 Diseño de investigación

Fue una investigación de diseño experimental.

### 3.3 Unidad de análisis

Ratas que presentaron lesiones inducidas en el dorso de la piel y los ratones con su posterior corte anatomohistopatológicos se tomó en cuenta las unidades de medidas de morfometrías

### 3.4 Muestra de animales de experimentación.

Se utilizaron 80 ratas cepa Holzman de 2 meses de edad con un peso de 180 y 250 g y 06 ratones Cepa Balb/C-53 de 2 meses de edad con un peso aproximado de 27 y 30 g, ambos procedentes del Instituto Nacional de Salud.

### 3.5 Método de estudio

#### 3.5.1 Material biológico, laboratorio, equipos y reactivos

**Material biológico.** Extracto *Ranunculus praemorsus*, solución al 95% *Croton Lechleri Muell* (Sangre de grado) como estándar.

**Materiales de laboratorio.** Pinzas, tubos de ensayos, gradillas, baguetas, micropipetas, sílica gel G60 F<sub>254</sub> - pipetas, bombillas, cocinilla eléctrica de marca ceran 500-209- Alemán.

**Reactivos.** Eter de petróleo, hexano, acetato de etilo, cloroformo, Metanol ácido clorhídrico, ácido acético, etanol 96°, amoníaco, agua

destilada, ácido nítrico, ácido pícrico, ácido sulfúrico, tricloruro férrico, Reactivos de Dragendorff, Wagner, Mayer, Liebermann bouchard, Fehling, Ninhidrina y Shinoda.

**Equipos.** Lámpara de luz UV de 254 a 365 nm, planímetro digital marca Koizumi, rotavapor büchi R - 124 WaterbathB Büchi Type – 480, molino de cuchillas, estufa marca Memmert Type: UM 200, balanza analítica marca Sartorius, campana extractora klimatechnik modelo GL1000, cocina eléctrica Ceran 500 209 (Alemana).

### **3.5.2 Recolección de la especie y estabilización**

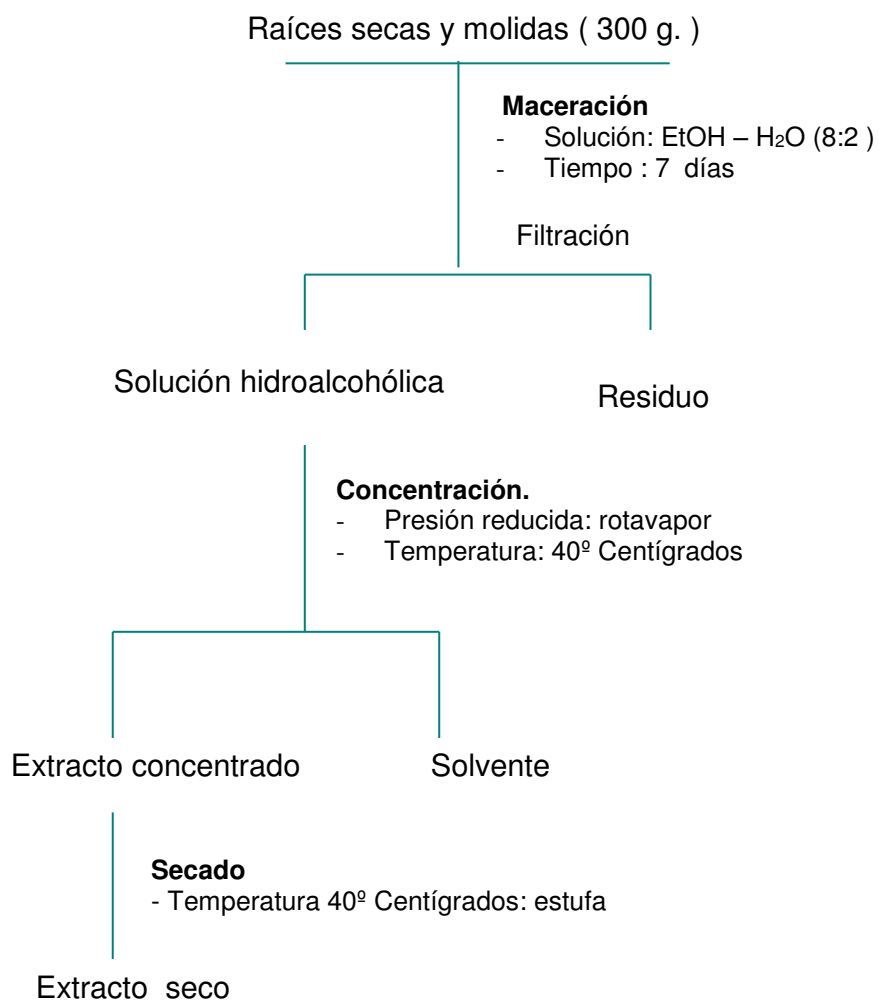
La especie vegetal fue recolectada en el anexo de Huayrapampa, Distrito de Lambrama ubicado entre los 3,500 y 4000 m. s. n. m de la Provincia de Abancay y Departamento de Apurímac durante los meses de abril y mayo del año 2012. Se separaron las partes aéreas de las raíces y se estabilizó a temperatura ambiente bajo sombra por 2 días y posterior secado en estufa a 40°C hasta obtener las raíces secas (Dominguez, 1979; Sharapin, 2000).



**Figura 1.** Recolección del material vegetal en el anexo de Huayrapampa del Departamento de Apurímac.

### **3.5.3 Preparación del extracto hidroalcohólico.**

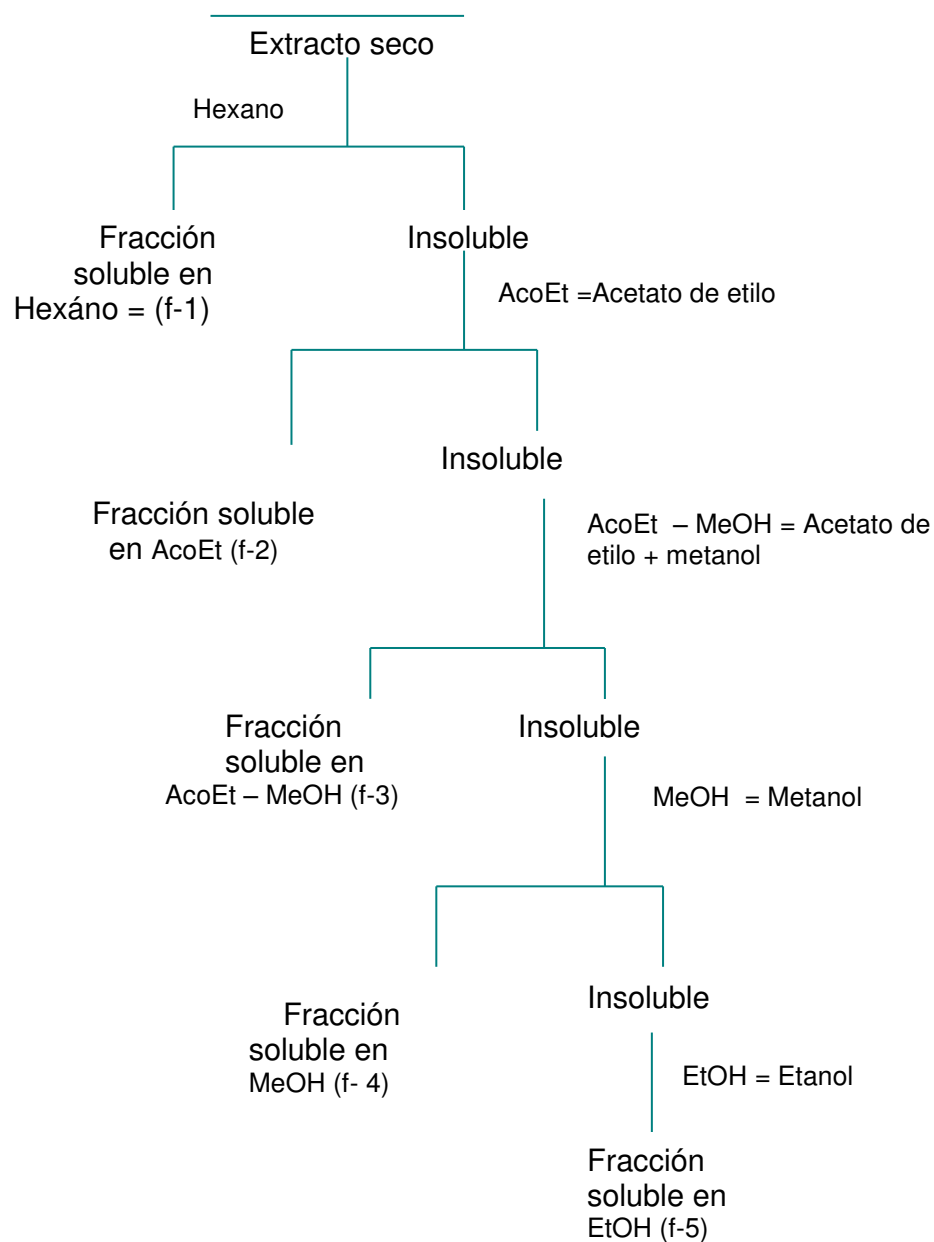
Las raíces secas fueron sometidas a una molienda utilizando un molino de cuchillas hasta obtener partículas finas, de las cuales 300 g. se maceró con la mezcla hidroalcohólica EtOH-H<sub>2</sub>O en frasco ámbar de boca ancha durante 7 días con agitación frecuente y protegido de la luz y calor, posteriormente se filtró y concentró a presión reducida en rotavapor hasta obtener un extracto concentrado que posteriormente se llevó a la estufa a 40°C y se obtuvo el extracto hidroalcohólico (Lock, 1994).



**Figura 2.** Flujograma de la obtención del extracto hidroalcohólico de *Ranunculus praemorsus* H.B.K ex DC. “Waranjansi”

### **3.5.4 Estudio fitoquímico preliminar**

En el estudio fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Ranunculus praemorsus* H.B.K ex DC, se emplearon ensayos de solubilidad usando solventes de diferente polaridad, para determinar la presencia de metabolitos primarios y secundarios se realizaron diferentes ensayos con reactivos químicos de identificación, mediante cambios de color o formación de precipitados, considerando: carbohidratos (Molish), aminoácidos (Nihidrina), azúcares reductores (Fehling), alcaloides (Dragendorff, Mayer, Wagner), triterpenos y esteroides (Liebermann Bouchard), compuestos fenólicos(tricloruro férrico), taninos (Gelatina) y flavonoides (Shinoda); calificándose como reacción positiva moderada y reacción positiva intensa.(Lock, 1994; Bonilla, 1996). Para las reacciones químicas de identificación y análisis por cromatografía en capa fina del extracto hidroalcohólico de *Ranunculus praemorsus*, fue sometida a un proceso de fraccionamiento por el método de cromatografía en columna. Para la fase estacionaria se dispuso de una columna de vidrio empacada de gel de sílice, se le añadió el extracto hidroalcohólico en la parte superior de la columna, seguidamente se fue agregando los solventes de diferentes polaridades (hexano, acetato de etilo, acetato de etilo + metanol de proporción, metanol y etanol); a las fracciones resultantes se les denominó fracción hexánica = (f-1), fracción en AcoEt (f-2), fracción en AcoEt + MeOH (f-3), fracción MeOH (f- 4) y fracción EtOH (f-5), en la figura N° 3 se aprecia el proceso de fraccionamiento(partición). Para la detección de los metabolitos secundarios se realizó mediante la cromatografía en capa delgada (silica gel G60 F<sub>254</sub>), como fase fija seguidamente se procedió a sembrar las fracciones obtenidas del extracto ,dichas placas fueron introducidos en la fase móvil: Hexano-AcoEt - MeOH -Ac.Acético ( 3:5:2:1), posteriormente se emplearon reveladores: Luz UV a 254 y 365 nm y reactivos reveladores ( Dragendorff, Liebermann buchard, tricloruro de fierro al 10% y ácido sulfúrico al 20% (Lock, 1994; Mcnair, *et al.*,1980; Domínguez, 1979; Valencia, 1996).



**Figura 3.** Flujograma de partición del extracto hidroalcohólico de *Ranunculus Praemorsus* H.B.K ex DC. “Waranjansi”

### **3.6 Determinación del efecto cicatrizante**

#### **3.6.1 *Materiales biológicos, instrumentos quirúrgicos y otros***

Ratas albinas de ambos sexos de entre 180 y 250 g y ratones *albinos de peso de 25 a 30 g*, jeringas 1cc, 5cc, algodón, guantes quirúrgico, bisturí N°21, gasas estéril, pinza cortante, tijera, tecnopor, formol, planímetro digital, cámara fotográfica digital, pentobarbital sódica, azul de metileno y crema depilatoria.

#### **3.6.2 *Método de lesión inducida en el lomo de ratas***

Para evaluar la actividad cicatrizante se utilizó ratas de ambos sexos cepa Holtzman entre 180 g. y 250 g. de peso, que se adquirieron del Bioterio del Instituto Nacional de Salud - Chorrillos – Lima Perú.

Los animales fueron distribuidos al azar en 8 grupos, con 10 animales cada uno y permanecieron durante 3 días en el laboratorio para su aclimatación. Se mantuvieron con alimentación adecuada y agua a lo largo del experimento.

Se depilaron las ratas en el lomo con 24 horas de anticipación con el fin de descartar una reacción alérgica a la crema depilatoria, al día siguiente se pesaron las ratas seguidamente se colocaron en jaulas, luego fueron anestesiadas con pentobarbital 30 mg/kg, se desinfectó el área depilada y se usó una plantilla circular de acero inoxidable, delineando con azul de metileno. La creación de las heridas fue por escisión siguiendo las líneas marcadas obteniéndose el corte de 1.5 cm de diámetro y 0.2 cm de profundidad usando pinza cortante y tijera punteada (Shivananda, 2006; Arroyo, *et al.*, 1999; Soriano, *et al.*, 2004; Kupeli, *et al.*, 2012).



### 3.6.3 Diseño experimental.

Tratamiento por vía tópica del extracto de *Ranunculus Praemorsus* en crema base (sin principio activo)

Grupo (BC): crema base

Grupo A : Extracto al 1% en crema

Grupo B : Extracto al 5% en crema

Grupo C : Extracto al 10% en crema

Grupo patrón (GP): Sangre de grado al 95%

Grupo E: Extracto al 20% en crema

Grupo F: Extracto total de

***Ranunculus Praemorsus***

Tratamiento por vía oral del extracto de *Ranunculus Praemorsus* en agua destilada

Grupo (S): agua destilada 2 mL

Grupo A: Extracto 10 mg/kg

Grupo B: Extracto de 50 mg/kg

Grupo C: Extracto de 100 mg/kg

Grupo D: Sangre de grado de 160 mg/kg

Grupo E: Extracto de 200 mg/kg

### 3.6.4 Procedimiento.

- 1) Obtenido los cortes se procedió a fotografiar con cámara digital a una misma distancia las áreas lesionadas (fotografías del primer día), luego se inició el tratamiento cada 12 horas por 11 días. Los grupos controles solo recibieron agua destilada vía oral y crema base vía tópica
- 2) Al 5to día y 11vo día se volvieron a tomar fotografías a las áreas lesionadas, al término de 11vo día se sacrificó las ratas con alta dosis de pentobarbital (60 mg/kg) y se obtuvieron las muestras de tejidos con cicatrices experimentales seccionando una área cuadrada de 2.3 cm, estos tejidos fueron puestos cuidadosamente en trozos de tecnopor y depositados en recipientes con contenido de formol neutro al 40% y su posterior corte anatomohistopatológicos, se tuvo en cuenta las unidades de medidas de morfometrías.
- 3) Para evaluar la cicatrización de heridas se procesó todas las fotografías a la misma distancia, las cuales fueron impresas y con planímetro digital se pasó por el contorno de las lesiones, permitiendo el cálculo del área de reducción expresándose el efecto cicatrizante en porcentaje.

### **3.6.5 Método de medición.**

El planímetro digital, es un instrumento de medición de superficies planas regulares o irregulares, usados habitualmente por ingenieros, arquitectos y topógrafos (Díaz, *et al.*, 2008). dicho planímetro se utilizó en este trabajo de investigación para evidenciar las áreas de reducción de las heridas para ello se tomaron fotografías de los diferentes grupos experimentales (1ro, 5to y 11vo día). Utilización básica: Se fijó el brazo del planímetro en un punto de partida como aparece en fotografía N°1 del anexo, recorriendo el perímetro del área de las imágenes fotográficas a medir en el sentido de las agujas del reloj. El extremo del brazo más corto del planímetro lleva una lupa en cuyo centro hay un punto que es la guía que lleva a lo largo de todo el circuito, se procedió a recorrer por todo el perímetro de la imagen fotografiada en papel (nos da datos en números cuanto mide). Los valores de cada área medida aparecen en la pantalla del planímetro, dichos valores vienen dados en mm<sup>2</sup> (Díaz, *et al.*, 2008)

### **3.6.6 Determinación de la concentración y dosis efectiva media de efecto cicatrizante vía tópica y oral con el extracto de la planta**

Para determinar la concentración efectiva media y dosis efectiva media se evaluó el área superficial de la cicatrización, se tomó fotografías a una misma distancia al primer, 5to y 11vo día las lesiones de los animales individuales se usó las imágenes fotográficas y con el planímetro se pasó por el contorno de las lesiones de cada uno de las imágenes fotográficas, permitiendo el cálculo del área de curación de heridas y luego expresarlo en porcentaje de eficacia de curación de heridas se utilizó la siguiente fórmula. (Shivananda, 2006; Shanmuga, *et al.*, 2002; Rajasekaran, *et al.*, 2004; Rojas, *et al.*, 2011).

$$\% \text{ de eficacia de curación de herida} = \frac{\text{Grupo Control} - \text{Grupo tratado}}{\text{Grupo control}} \times 100$$

### 3.7 Evaluación de la toxicidad aguda

Para la evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de *Ranunculus praemorsus* H.B.K ex DC en ratones adultos cepa Balb/C53, por vía oral, se formaron dos grupos de: 3 ratones hembras y 3 ratones machos con un peso promedio de 25 a 30g. Se mantuvieron en condiciones convencionales, temperatura de 22°C, humedad relativa de 65%. La iluminación fue de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad. Los animales se mantuvieron en ayuna (12 horas) antes de la administración única del extracto hidroalcohólico de *Ranunculus praemorsus*, se administró por vía oral mediante intubación intragástrica, utilizando una cánula de curva metálica, a una dosis de 2000 mg/kg de peso corporal, por ser esta la dosis más alta posible a causar la muerte.

Los principios y criterios que fueron tomados en consideración: animales que se encuentren en una condición de malherido, agonizante y que presenten dolor intenso o signos de continuos sufrimientos, se sacrificaran por dislocación cervical.

Los animales fueron observados individualmente, después de la administración del extracto cada 4 horas durante las primeras 24 horas, continuando los días sucesivos hasta completar los 14 días (temblores, salivaciones, convulsiones, diarrea, letargo, sueño y coma) del estudio. Luego se realizó laparotomía exploratoria para extraer los órganos a examinar (riñón e hígado) los cuales fueron fijados en formol al 10% posteriormente se evaluó por anatomopatológico, por microscopio a dichos órganos. (Martínez, *et al.*, 2001; Pérez, *et al.*, 2011; OECD/OCDF 423, 2001).

### 3.8 Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a un análisis estadístico para determinar la media  $\pm$  desviación estándar de los valores individuales para cada grupo de muestras. Los medios de prueba se evaluaron usando la prueba de T-Student. Así como se tuvo en cuenta una significancia estadística a un

$p < 0.05$ . (Murray, 1969; Dawson, *et al.*, 1989; Wayne, 1997). Se utilizó el paquete estadístico MINITAB, versión 17

### **3.9 Consideraciones éticas**

Para este trabajo de investigación todos los animales fueron tratados de acuerdo a las normas éticas en el tránsito hacia el laboratorio de experimentación, en su calidad de vida, alimentación y ambiente, en concordancia con la guía en el uso y cuidado de animales para propósitos científicos y la ley de protección a los animales domésticos y a los animales silvestres mantenidos en cautiverio (National Advisory Committee, 2004; Aline, S. 2002; Fujimori, *et al.*, 2000).

## CAPÍTULO IV RESULTADOS

### 4.1. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

**Tabla 1.** Prueba de solubilidad en el extracto hidroalcohólico de la especie *Ranunculus praemorsus* H.B.K ex DC

Nº	Solventes	Resultados
1	Eter de petróleo	+
2	Hexano	+
3	Benceno	+
4	Éter etílico	+
5	Cloroformo	+
6	Acetato de etilo	+
7	Acido Acético	++
8	Diclorometano	+
9	Butanol	-
10	Acetona	+
11	Etanol	+
12	Metanol	++
13	Agua destilada	++

**Leyenda:**

Insoluble (-)

Poco soluble (+)

Soluble (++)

Los resultados de los ensayos de solubilidad del extracto usando solventes de diferentes polaridades, determinó como mejores solventes al ácido acético, metanol y agua destilada.

**Tabla 2.** Screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de  
*Ranunculus praemorsus* H.B.K ex DC

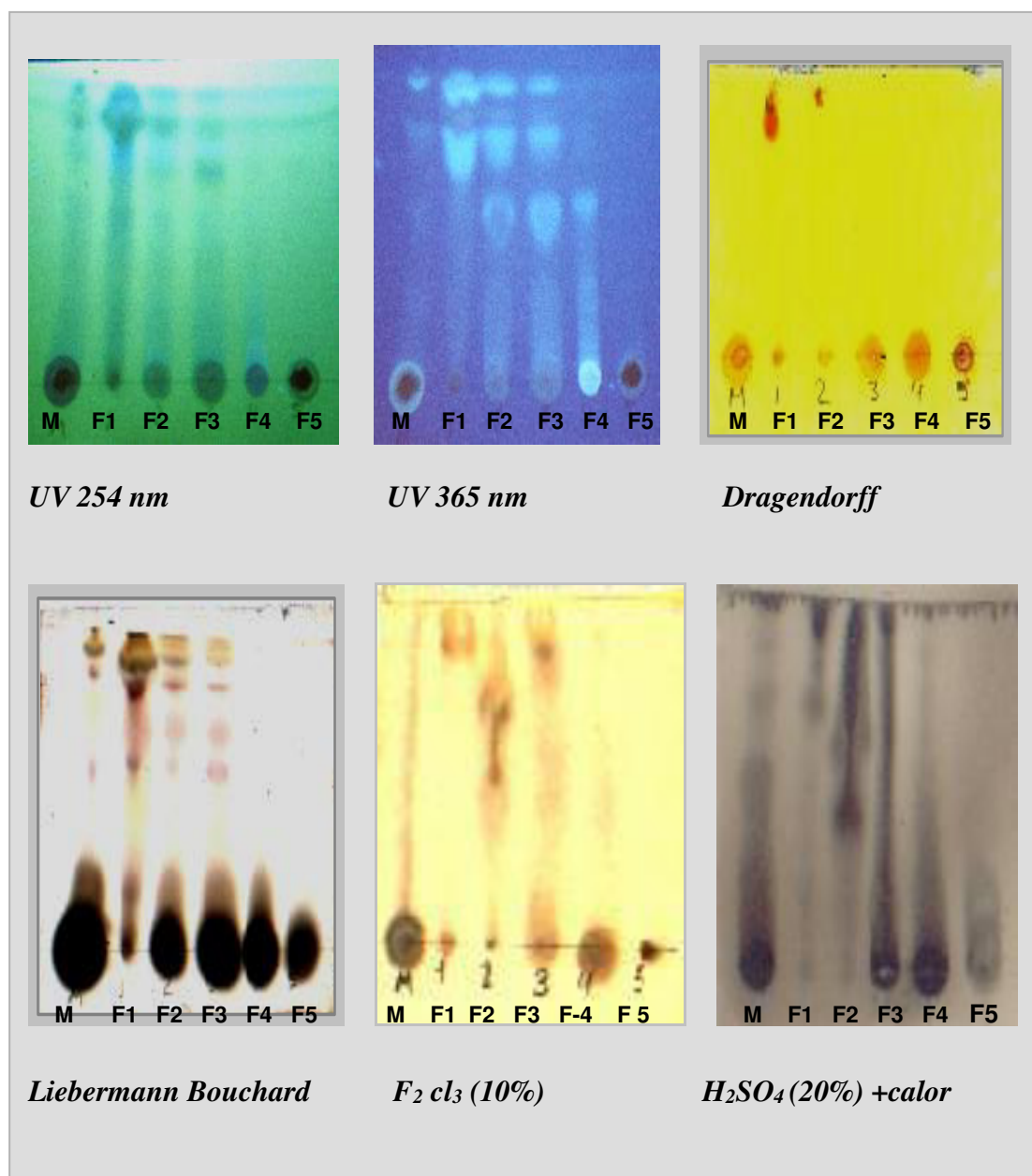
Nº	Metabolitos secundarios	Reactivos	Resultados
1	Alcaloides	Dragendorff, Mayer, wagner	++
2	Triterpenos y esteroides	Liebermann Bouchard	++
3	Compuestos fenólicos	Fe Cl <sub>3</sub> 1%	+
4	Taninos	Gelatina	+
5	Flavonoides	Shinoda	++

**Leyenda:**

Negativo (-)  
 Reacción positiva moderada (+)  
 Reacción positiva intensa (++)

El screening fitoquímico realizado con el extracto determinó la presencia importante de alcaloides, flavonoides, triterpenos, esteroides y en menor presencia de compuestos fenólicos y taninos.

Por screening cromatográfico realizado mediante la cromatografía en capa fina a las fracciones obtenidas denominadas como fracción hexánica = (f-1), fracción en AcoEt (f-2), fracción en AcoEt + MeOH (f-3), Fracción MeOH (f- 4), fracción EtOH (f-5), y el extracto (M), se observa en el figura N°4 las cuales a Luz UV a 254 y 365 nm se observan manchas verde oscura, fluorescencia de color celeste y ligeramente amarillo y al revelar con (Dragendorff, Liebermann buchard, tricloruro de fierro al 10% y ácido sulfúrico al 20%, lo que indica la presencia de alcaloides y flavonoides. (Sharapin, 2000; Arning, et al., 2000).

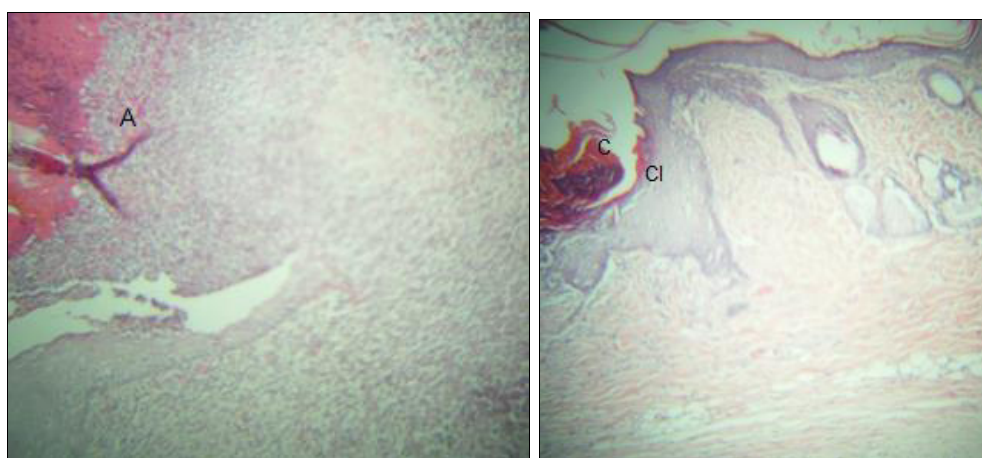


**Figura 4.** Identificación preliminar de metabolitos secundarios presentes en las reacciones (f -1 a f- 5) y (M) en CCF ( silica gel G60 F<sub>254</sub>)

## 4.2 Determinación del efecto cicatrizante

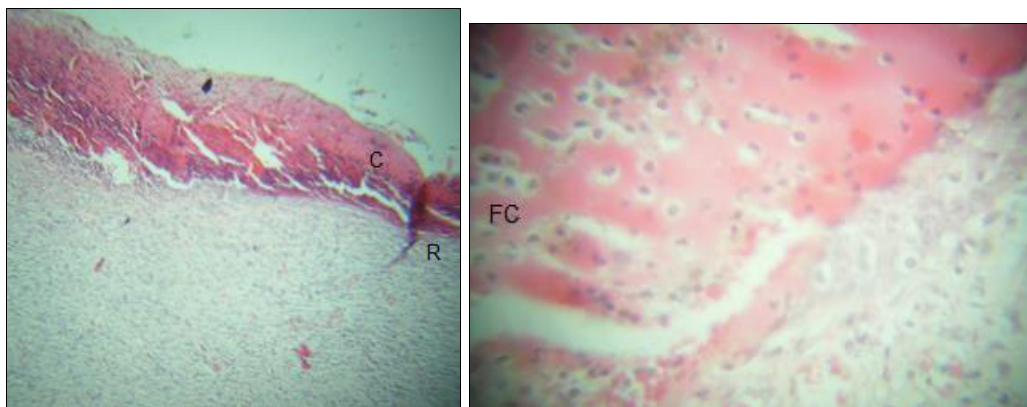


**Figura 5.** Base de crema (BC): suero fisiológico 2 mL vía oral y tópica crema base sin principio activo; C: se observa formación de costra; DE: discreta erosión en la epidermis. H-E 100 x

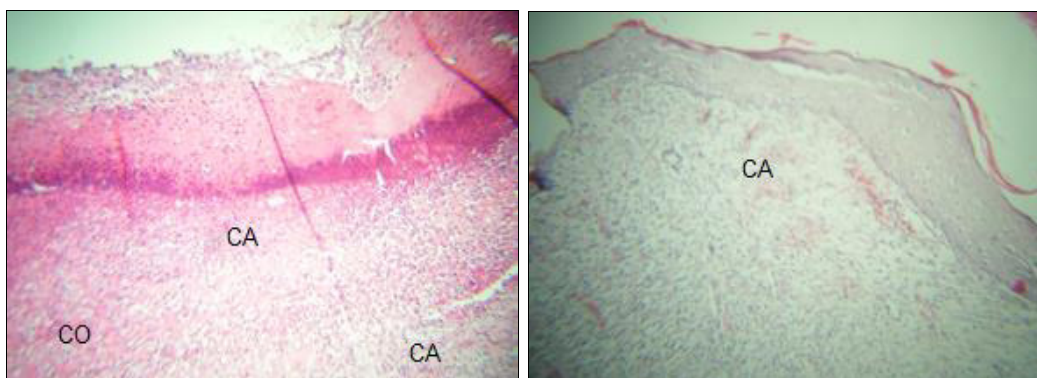


**Figura 6.** Extracto *de Ranunculus Praemorsus*. de 10 mg/kg vía oral y tópica al 1% en crema (tratamiento cada 12 horas), A: presencia de abscesos en la dermis; C: formación de costra; CI: cicatrización incipiente. H-E 100 x

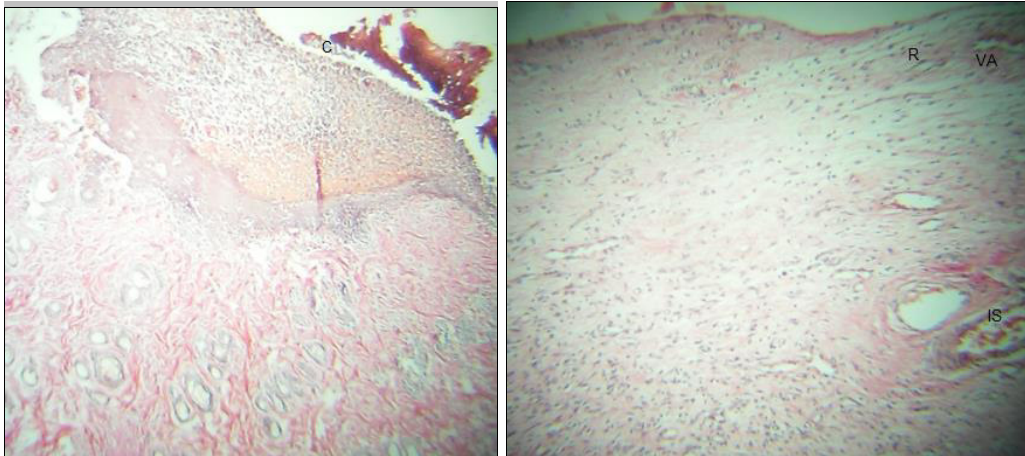




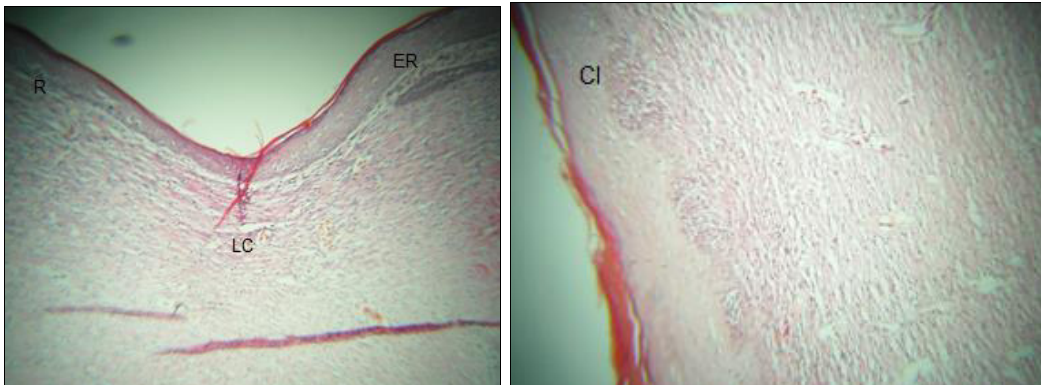
**Figura 7.** Extracto de *Ranunculus Praemorsus*. de 50 mg/kg vía oral y tópica al 5% en crema (tratamiento cada 12 horas), C: formación de costra; R: reepitelización; FC: fibrosis cicatricial. H-E 100 x y 400x



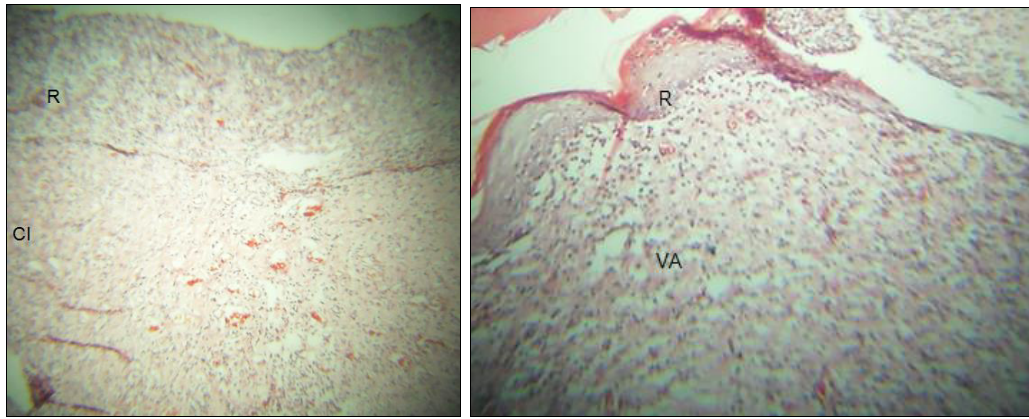
**Figura 8.** *Ranunculus Praemorsus*. de 100 mg/kg vía oral y tópica al 10% en crema (tratamiento c/12 horas), CO: presencia de colágeno en dermis; CA: Se evidencia abundantes capilares en epidermis. H-E 100X



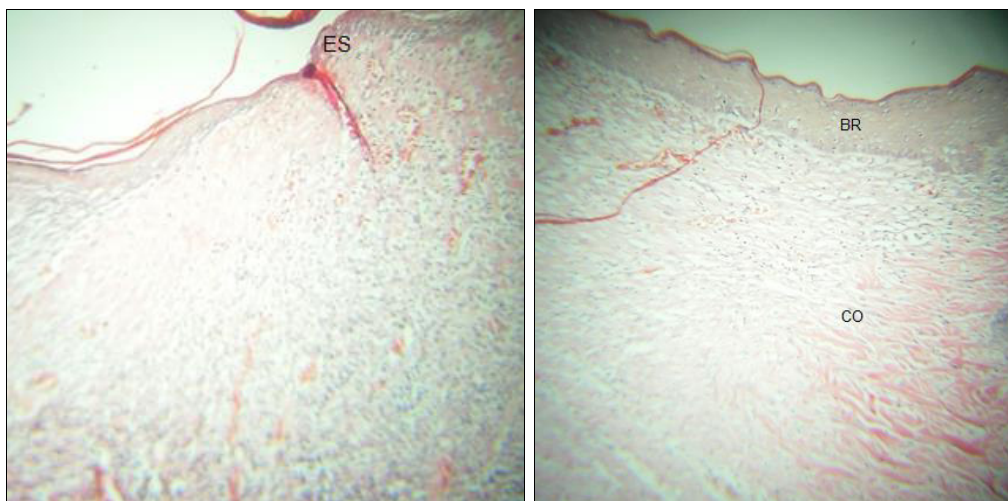
**Figura 9.** Sangre de grado vía oral 160 mg/kg (tratamiento cada 12 horas), C: costra; R: reepitelización; VA: vasos; VA: irrigación suficiente. H-E 100 X



**Figura 10.** Extracto de *Ranunculus Praemorsus*. de 200 mg/kg vía oral y tópica al 20% en crema (tratamiento cada 12 horas), R: reepitelización; LC: lecho cicatricial; ER :epitelio reconstituido; CI: cicatricial. H-E 100 X

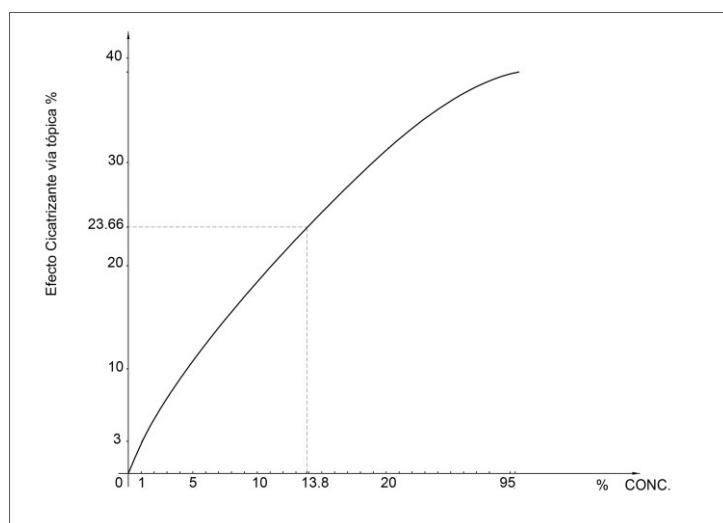


**Figura 11.** Sangre de grado en solución al 95% por vía tópica (tratamiento cada 12 horas), R: Reepitelización; CI: cicatriz; VA: nuevos vasos sanguíneos abundantes. H-E 100 X

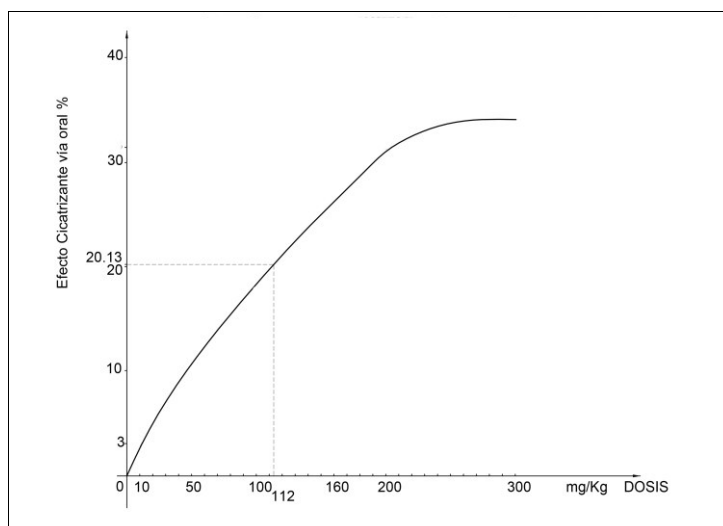


**Figura 12.** Extracto hidroalcohólico de *Ranunculus Praemorsus* por vía tópica (extracto total) y tratamiento cada 12 horas. ES: epitelización suficiente; BR: buena reepitelización; CO: colágeno. H-E 100 X

### 4.3 Determinación de la concentración y dosis efectiva media



**Figura 13.** Curva del efecto cicatrizante vía tópica versus diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Ranunculus Praemorsus* durante 11 días. La concentración efectiva media (CEM) es de 13.8 %.

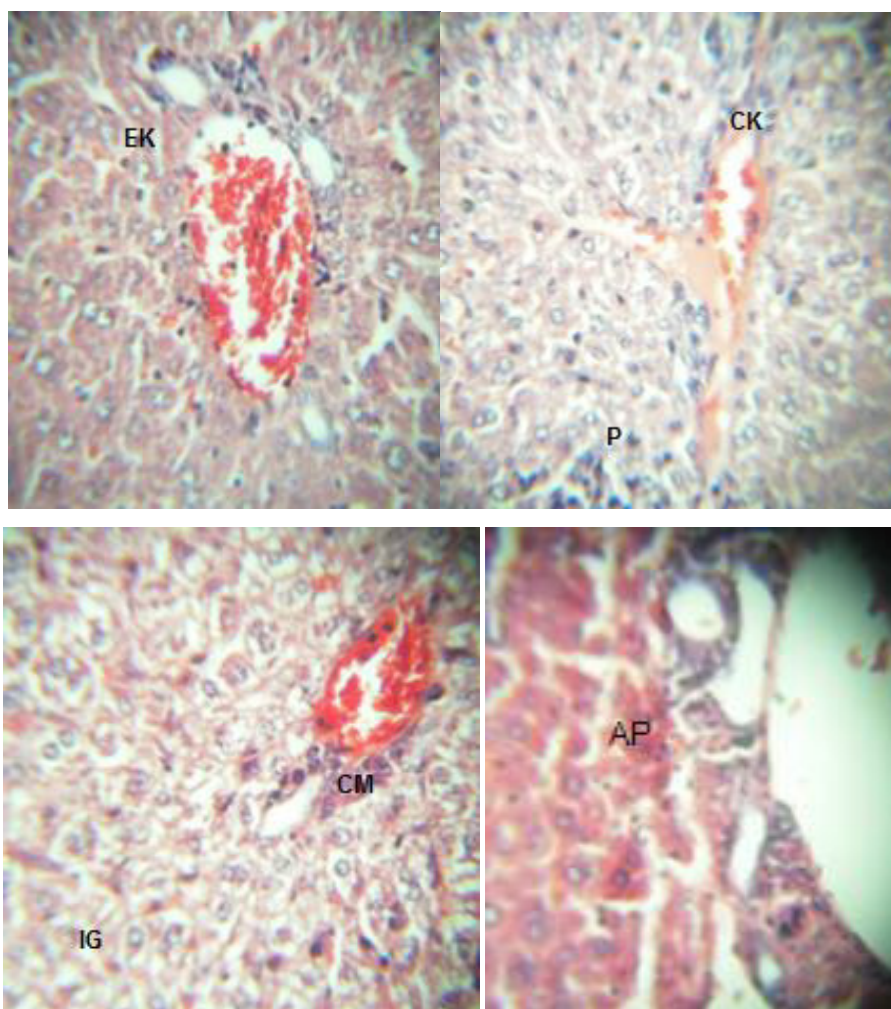


**Figura 14.** Curva del efecto cicatrizante vía oral versus diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de *Ranunculus Praemorsus* durante 11 días. La dosis efectiva media (DEM) es de 112 mg / kg



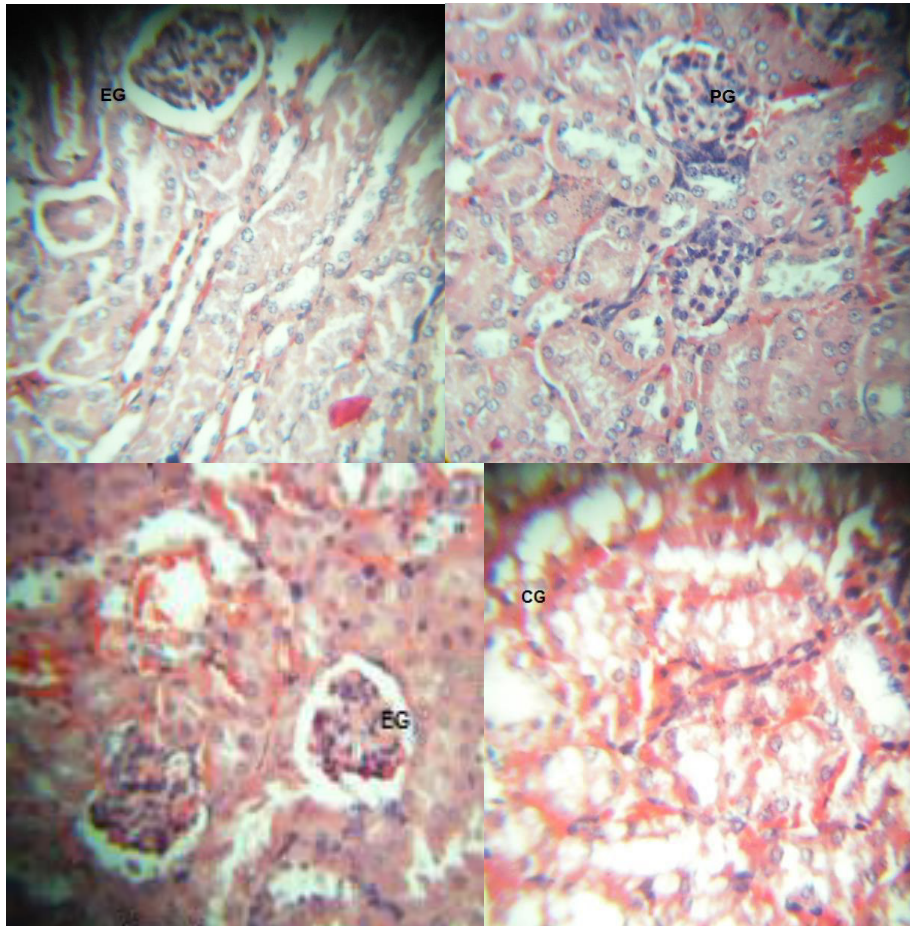
#### 4.4 TOXICIDAD AGUDA

La dosis de toxicidad aguda de *Ranunculus praemorsus* H.B.K ex DC “Waranjansi”, se encuentra a una dosis de 2000 mg /kg de peso administrados por vía oral en ratones de experimentación. Se observó que los animales no murieron a esa dosis. Entre los principales hallazgos anatomohistopatológicos del hígado en la fotografía 15, se aprecia hemorragia en el espacio de kier (EK), aumento de células de Kupffer entre 10 y 40% (CK), se observa picnosis (P), infiltración grasa (IG) y congestión microvesicular a nivel del núcleo (CM) y apoptosis (AP)



**Figura 15.** Histopatología del hígado tinción con Hematoxilina y Eosina (HE) - 100X y 400X

En el estudio anatomohistopatológico del riñón en la figura 16 se observó esclerosis glomerular (EG), policelularidad glomerular (glomerulitis) (PG) y congestión glomérulo tubular (glomerulo nefritis) (CG)



**Figura 16.** *Estudio histopatológico del riñón. Tinción con Hematoxilina y Eosina (HE) - 100X.*

## 4.5 ANALISIS ESTADÍSTICO

**Tabla 3.A Efecto cicatrizante de *Ranunculus praemorsus* sobre modelo  
Incisión de herida circular por vía tópica.**

<b>Día Tratamiento cada 12 horas</b>	<b>Día 1 Área herida(mm2) Media ± DE (Eficacia %)</b>	<b>Día 5 Área de herida (mm2) Media ± DE (Eficacia %)</b>	<b>Día 11 Área de herida (mm2) Media ± DE (Eficacia %)</b>
Grupo Base de crema (BC)	374,5 ± 46.171	292.5 ± 34.28	150.0 ± 26.41
Grupo (A)	325.0 ± 44.8 4(13.21)	271.0 ± 24.62 (7.35)	145.5 ± 13.32 (3.00)
Grupo (B)	325.0 ± 91.93(13.21)	267.0 ± 19.21 (8.71)	111,5 ± 9.68 (25.66)
Grupo( C)	316.5 ± 40.91(15.48)	223.5 ± 13.99 (23.58)	123.5 ± 8.92 (17.66)
Grupo (E)	298.5 ± 34.31(20.29)	182.0 ± 25.55 (37.77)	103.0 ± 14.31(31.33)
Grupo Patrón (GP)	322.0 ± 42.21(14.01)	188.5 ± 19.57 (35.56)	89.0 ± 15.60 (40.66)
Grupo ( F )	279.5 ± 25.62(25.36)	203.5 ± 16.92 (30.42)	95.5 ± 16.01 (36.33)

**Valores están expresados como Media ± DE (Eficacia %) P < 0.05**

GRUPO (BC) = Base de crema VT(BC)=BCVT

GRUPO (A) =BC+ext1%= BCVT1%

GRUPO (B) =BC+ext 5% = BCVT5%

GRUPO (C) =BC+ext 10% = BCVT10%

GRUPO (E) =BC+ext.20%= BCVT 20%

GRUPO PATRON (GP)= S+Sangre de grado = SSVT 95 %

GRUPO (F) =Extracto total de *Ranunculus* por vía tópica =ETRTV 100%

Dónde: BCVT = base crema, vía tópica; ETRTV = extracto total de  
*Ranunculus* por vía tópica; SSVT= solución de sangre de grado por vía tópica

**Tabla 3.B Efecto cicatrizante de *Ranunculus praemorsus* sobre modelo  
Incisión de herida circular por vía oral.**

<b>Día</b> <b>Tratamiento</b> <b>cada 12 horas</b>	<b>Día 1</b> <b>Área herida(mm2)</b> <b>Media ± DE (Eficacia %)</b>	<b>Día 5</b> <b>Área de herida (mm2)</b> <b>Media ± DE (Eficacia %)</b>	<b>Día 11</b> <b>Área de herida (mm2)</b> <b>Media ± DE (Eficacia %)</b>
Grupo (S) solución de agua destilada	374,5 ± 46.171	292.5 ± 34.28	150.0 ± 26.41
Grupo (A)	325.0 ± 44.8 4(13.21)	271.0 ± 24.62 (7.35)	145.5 ± 13.32 (3.00)
Grupo (B)	325.0 ± 91.93(13.21)	267.0 ± 19.21 (8.71)	111,5 ± 9.68 (25.66)
Grupo( C)	316.5 ± 40.91(15.48)	223.5 ± 13.99 (23.58)	123.5 ± 8.92 (17.66)
<b>Grupo (D)</b>	<b>332.0 ± 31.47(11.34)</b>	<b>262.0 ± 23.59 (10.42)</b>	<b>115.5 ± 16.10 (23.00)</b>
Grupo (E)	298.5 ± 34.31(20.29)	182.0 ± 25.55 (37.77)	103.0 ± 14.31(31.33)

**Valores están expresados como Media ± DE (Eficacia %) P < 0.05**

GRUPO (S) =Solución agua destilada 2 ml/kg vo(S)=SVO

GRUPO (A) =S+ext.10 mg/kgVO = SEVO 10mg/ kg

GRUPO (B) =S+ext 50 mg/kgVO = SEVO 50 mg/ kg

GRUPO (C) =S+ext 100 mg/kgVO = SEVO 100 mg/ kg

GRUPO (D) =S+ Sangre de grado = SSVO a 160 mg/kg

GRUPO (E) =S+ext 200 mg/kgVO =SEVO 200 mg/ kg

Dónde: SVO = Solución vía oral; SEVO = solución extracto, vía oral;

SSVO = solución de sangre de grado, vía oral.



## CAPÍTULO V DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se ha demostrado que el extracto hidroalcohólico de ***Ranunculus praemorsus*** H.B.K.ex DC, tiene efecto cicatrizante. Al realizarse el estudio fitoquímico preliminar del extracto permitió establecer que contiene compuestos alcaloides, flavonoides, triterpenos y esteroides como se observa en la tabla 2 y la cromatografía de capa fina expresada en la figura 4. Los resultados concuerdan con los datos reportados para otras especies de familia ranunculaceae (Ruxi, *et al.*, 2013; Esra, *et al.*, 2012; M Shahzad, *et al.*, 2012; Braca, *et al.*, 2003; Nikhil, *et al.*, 2017), la mayor presencia de compuestos flavonoides y alcaloides cuya función principal es la síntesis de colágeno, proliferación de fibroblastos y el aumento de fibrillas de colágeno otorgan la actividad cicatrizante (Salih, *et al.*, 2015; Wesam, *et al.* 2016)

Hay estudios de propiedades biológicas atribuidas en mayor cantidad de compuestos fenólicos, como flavonoides, taninos etc, además de alcaloides, esteroides y /o triterpenoides que son responsables de la actividad cicatrizante como son los flavonoides intervienen en la cicatrización porque evitan la liberación de prostaglandinas, histaminas, además, estabilizan la membrana celular capturando a los radicales libres presentes, evitando así el daño celular, también se le atribuye su capacidad para inhibir la desgranulación de neutrófilos y la disminución de la liberación de ácido araquidónico, histaminas (Soriano, *et al.*, 2004; Emery, *et al.*, 2013), favoreciendo el estímulo del crecimiento de las células epiteliales para la formación de fibras de colágeno necesarias en el proceso de la cicatrización (Martínez, *et al.*, 2003).

Otros polifenoles han demostrado que tienen propiedades antioxidantes lo que ayudaría a prevenir el daño oxidativo y promover el proceso de curación (Sharifi, *et al.*, 2012), la inhibición de la peroxidación lipídica por efecto de flavonoides aumenta la viabilidad de las fibrillas de colágeno y la prevención del daño celular (Getie, *et al.*, 2002; Shetty, *et al.*, 2008). Uno

de los alcaloides como es la taspina fue demostrado que acelera el proceso de curación, posiblemente mediante el aumento de la migración de fibroblastos a la zona de la herida durante las primeras etapas de la cicatrización (Emery, *et al.*, 2013).

En la figura 13 se observa que la concentración efectiva media del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de ***Ranúnculos praemorsus*** H.B.K. es de 13.8 % vía tópica; asimismo en la figura 14 se observa que la dosis efectiva media del efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de ***Ranunculus praemorsus*** H.B.K. vía oral es de 112 mg/kg de peso.

En el estudio anatomohistopatológico de los tejidos cicatrizantes tomados de los grupos experimentales y control al día 11 del ensayo, como se indica en las figuras 5 al 12 donde se evidencian las diferencias del proceso de cicatrización: en el grupo control BC hay formación de costra (formación cutánea temporal de color rojo o pardo constituida por plaquetas y sangre que cubre la herida) y discreta erosión de la epidermis (ver figura 5). En los grupos A y B se observa la presencia de abscesos en la dermis con formación de costras, reepitelización dando el inicio de la cicatrización incipiente (ver figuras 6 y 7).

En el grupo C, se observa la presencia de colágeno, que es el componente básico del tejido conectivo, siendo importante en la remodelación la que da resistencia a la piel (Singer, *et al.*, 1999), abundantes capilares en la epidermis que es importante para la reparación del tejido dañado (Emery, *et al.*, 2013), ver figura 8).

La evaluación de los grupos (E) y (F) de las figuras 10 y 12 se observa que la reepitelización se relaciona con la migración de queratinocitos epidermales y la restauración de la membrana basal que conecta la epidermis con la dermis (Li, *et al.*, 2007). La presencia de colágeno es importante en la cicatrización por permitir el transporte de células y mediadores, además que es una evidencia de que el proceso se encuentra en una fase de formación del tejido granular y que promueve la migración de células endoteliales. La formación de la capa de

queratinocitos está favorecido con la deposición de colágeno y la contracción de la herida.

La eficacia de cicatrización se favorece con el empleo de plantas medicinales que tiene actividad farmacológica como son los alcaloides y flavonoides (Emery *et al.* 2013) Esto se confirma con la presencia de metabolitos secundarios encontrados en el extracto de *Ranunculus Praermorsus* H.B.K ex DC, mediante los estudios fitoquímicos preliminares (ver tabla 2 y figura 4) y las concentración al 20% y dosis de 200 mg/kg peso en comparación con el grupo patrón de sangre de grado como se aprecia en las grupos experimentales con los grupos patrones D y GP se evidencia una buena reepitelización, formación de costra, nuevos vasos sanguíneos y proceso cicatricial es un tejido fibroso que reemplaza al tejido normal, como se puede ver en las figuras 9, 10 y 11.

Al evaluar la toxicidad aguda a dosis límite a 2000 mg/kg no produjo mortalidad, pero hubo hallazgos en el hígado apreciando ausencia de envoltura biliar, hemorragia en el espacio de Kier, infiltración grasa y microvacuolización a nivel del núcleo en las células hepatocitos, cariólisis como se observa en la figura 15. Además en el riñón se observó glomerulos congestivos y aumentados hay presencia de esclerosis entre 10 y 20%, policelulares, capsula de Bowman hay descamación gruesa, en los túbulos proximales hay descamación y edemas, en tanto en los túbulos distales hay edema y micro abscesos ver figura 16 (Roersch, 1994; Baudilio, 1995; Prieto, *et al.*, 2003; Srivastana, *et al.*, 2010; Bruneton, 2001).

## CONCLUSIONES

1. El estudio fitoquímico preliminar del extracto hidroalcohólico de las raíces secas *Ranunculus praemorsus* H.B.K, ha determinado que presenta metabolitos secundarios como son los alcaloides, flavonoides.
2. El Extracto hidroalcohólico en las condiciones experimentales ha demostrado actividad cicatrizante a concentración al 20% y a dosis de 200 mg/kg
3. La evaluación toxicológica demostró que hay toxicidad aguda a dosis de 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico.

## RECOMENDACIONES

1. Continuar con la investigación fitoquímica que permita el aislamiento, purificación e identificación de compuestos de las fracciones solubles activas en los modelos farmacológicos.
2. Se requiere estudios más profundos para confirmar los hallazgos aquí reportados e indagar posibles mecanismos de acción al efecto cicatrizante de esta especie.
3. Se recomienda continuar con los estudios toxicológicos por presentar cierta hepatotoxicidad, administrados por vía oral a 2000 mg/kg de peso.
4. Seguir los estudios toxicológicos en otros modelos experimentales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aline, S. (2002). Animales de laboratorio y la Norma Oficial Mexicana. Gac.Méd. 3-138, 295-298.

Arning, I., Velásquez, H. (2000). Plantas con potencial Biocida Metodologías y experiencias para su desarrollo. Edición Red de Acción en alternativas al uso de Agroquímicos 191- 192

Arroyo, J., Bonilla, P., Tomás, G., Huamán, J. (2011). Estudio fitoquímico del extracto etanólico y de las fracciones de las hojas de *Piper Aduncum* "Matico" 62-67.

Arroyo, J., Pareja, B., Raez, J. (1999). Efecto cicatrizante del *Piper Angustifolium* R.&P. sobre lesiones de piel inducidas en animales de experimentación. Folia Dermatológica Peruana. 10(1), 48-51.

Ávalos, A., Pérez., U. (2009). Metabolismo secundario de plantas. Serie Fisiológica Vegetal 2 (3), 119-145.

Baudilio, J. (1995). Guía de la Flora Medicinal Tóxica, Aromática y Condimenticia. Editorial Aedos-España.167, 264-267.

Bayat, A., McGrouther, D., Ferguson, M. (2003). Skin scarring Deciding whether to treat a scar or leave it alone depends on accurate diagnosis of scar type and scar site, symptoms, severity, and stigma. 88- 92.

Bendezu, D., Huamán, S., Lucas, M. (2001). Contribución al Estudio Fitoquímico y Toxicológico de las *Leguminosas Canavalia Ensiformes* (Frijol de los Gentiles) y *Stizolobium Pruriens* (Haba Silvestre). Tesis de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad San Luís Gonzaga de Ica.

Bonilla, P. (1996). Estudio fitoquímica de los metabolitos secundarios en hojas y tallos de *Lupinus Ballianus*. Lima – Perú. 25-29.

Braca, A., Pico, G., Morelli, I. (2003). Antioxidant and free radical scavenging activity of flavonol glycosides from different *Aconitum* species. Journal of Ethnopharmacology. 1 (86). 63-67.

Brako, L., Zarucchi, J. (1993). Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. Editorial. Missouri Botanical Garden.USA. 999-1003.

Bruneton, J. (2001). Farmacognosia. Fitoquímica y Plantas Medicinales. 2da Ed. Editorial. Acribia S. A. Zaragoza-España. 738-1044.

Brunicardi, Ch., Andersen, D. (2010). Schwartz Principios de Cirugía 10a Ed. Editorial. McGraw Hill. USA. 223-446.

Cao, B., Meng, Q. (1992). Analgesic and anti-inflammatory effects of *Ranunculus japonicus* extract. Planta Médica. 496–498.

Dawson, B., Trapp, R. (2010). Bioestadística médica. 9va Edición. Editorial El Manual Moderno. México. 88-98.

De la fuente D. (1999). Flora Dermoagresiva de Canarias. Universidad de La laguna. Departamento de Medicina Fisica y Farmacologica. 19-35, 310-312.

De la Puente, M., Ruiz, M. (1997). Metabolitos Secundarios de la Consolida Aconiti. Boletín de la Sociedad Química del Perú. 44-49.

Díaz, L., Meza, H. (2008). Uso del planímetro y pantógrafo. 1-5.

Domínguez, A., Alzugaray, C. (1996). Plantas que curan. Editorial Tres. 151

Domínguez, X. (1979). Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial Limusa. México. 211 – 224.

Emery, D., Tsala, Dawe, A., Habtemariam, S. (2013). Natural wound healing and bioactive natural products. *Phytopharmacology* 4(3), 532-560.

Erdogan, T., Kiveak, B., Onur, M. (2012). Chemical constituents and cytotoxic activity of *Ranunculus pedatus subsp. Pedatus*. *Chemistry of natural compound*, 1.(48), 3.

Fiasson, J., Gluchoff, K., Dahlgren, G. (1997). Flavonoid patterns in European *Ranunculus L. Subgenus Batrachium* (Ranunculaceae). *Biochemical Systematic and Ecology*. 25(4), 327-333.

Font Quer, P. (1981). Plantas Medicinales. El Dioscórides renovado. Editorial Labor S.A. España. 202- 234.

Fujimori, A., Bustamante, A., Garcia, F., De las Casas, B., Aguinaga, A. (2000). Ley N°27265: ley de protección a los animales domésticos y a los animales silvestres mantenidos en cautiverio. *Diario el Peruano*.

García, H. (1992). Flora Medicinal de Colombia. Botánica Médica. Editores Tercer Mundo. Bogotá –Colombia. 307-311.

Gelsomina, F., Braca, A., De Tommasi, N. (2001). Flavonoids from *Aconitum napellus subsp. neomontanum*. *Phytochemistry*, 57. Université Lyon – Francia. 543 – 546.

Getie, M., Gebre Mariam, T., Reitz, R., Neubert, R. ( 2002). Evaluation of the release profiles of flavonoids from topical formulations of the crude extract of the leaves of *Dodonea viscosa* (Sapindaceae). *Pharmazie* 5, 320–322.



Guillermo, F., Bonilla, P., Arroyo, J. (2005). Efecto cicatrizante del tallo subterráneo de *peperomia scutellaefolia* R, et P. en geles aplicados a *ratus norvegicus*.

Gluchoff, K., Fiasson, J., Waton, H. (1996). Quercetin Glycosides from European Aquatic Ranunculus Species of Subgenus *Batrachium*. *Phytochemistry*. 45, 5, 1063-1067.

Ghosh, K., Gaba, A. (2013). Phyto- Extracts in Wound Healing). *J Pharm pharm Sci*. 760-820.

Goyal, S., Kumar, S. (2010). Anti-anxiety activity studies of various extracts of *Pulsatilla nigtricans* Stoerck, *journal of Pharmaceutical*, 291-293

Grigg, R., Savic, V., Thorton, M. (1997) .4-Substituted Protoanemonin in Intramolecular Cycloaddition Reactions of Non-stabilised Azomethine Ylides. *Tetrahedron*, 53, 30, 10633-10642.

Haslan, E. (1996). "Natural polyphenols (vegetables tannins) as drugs: possible modes of action". *Journal of Natural Products*. 205-215.

Haley,R., Culver, D., White, J., Morgan, W., Emori, T., Munn, V., Hooton, T. (1985).The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections in US hospitals. *Am J Epidemiol* 121, 82–205.

Hiang, X., Hong, X., Sheng, X. (1995). Diterpene Alkaloids from Roots of *Spiraea Japonica* (1995) *Phytochemistry*, 30, 2, Kunming Institute of Botany – China. 545-547.

Hohmann, J., Forgo. P., Ajdu, Z. (2002). Norditerpenoid Alkaloids from *Consolida orientalis* and Complete <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR Assignments Alkaloids. *Journal of Natural Products* 7, 65.

Juro, S., Flores, V., Mendoza, Y., Carpio, C. (2010). Efecto cicatrizante de las diferentes formas farmacéuticas tópicas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica* Diels “nogal” en ratones albinos. Cusco- Perú. 19-24.

Jurjus A., Atiyeh, B., Abdallah, I., Jurjus, R., Hayek, S., Jaoude, M., Gerges, A., Tohme R. (2007). Pharmacological modulation of wound healing in experimental burns. Burns. 892– 907.

Kupeli, E., Sutar, I., Fafal, T. (2012). Wound healing and anti-inflammatory properties of *Ranunculus pedatus* and *Ranunculus constantinopolitanus*: A comparative study. Journal of Ethnopharmacology 139, 2, (31), 478-484.

Li, H., Zhou, C., Pan, Y., Gao, X., Bai, H., Zhou, L. et al. (2005). Evaluation of antiviral activity of compounds isolated from *Ranunculus sieboldii* and *R. sceleratus*. Vol. 71, 1128–1133.

Li, J., Chen J., Kirsner R. (2007). Pathophysiology of acute wound healing. Clinics in Dermatology. 9-18.

Liang, Y., Chen, Z., Liu, L. (2008). Studies on chemical constituents of *Ranunculus japonicus*. Zhongguo Zhongyao Zazhi. 2201–2203.

Lock, O. (1994). Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales. PUCP. Lima-Perú. 1-7.

Lock, O. (1999). Registro y control de calidad de recursos y productos naturales de uso en salud. Pontificia Universidad Católica del Perú Fondo Editorial. Lima. 11-63.

Lourteig, A. (1956). Ranunculáceas de Sudamérica Tropical. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. Editorial Sucre. Caracas-Venezuela. 125-130.

- Macbride, J. (1937). Flora of Perú. Chicago – U.S.A. 652.
- Marini, M., Valdez, R., String, O., García, Díaz., Ubogui, J. (2008). Consenso sobre cicatrización de heridas de Sociedad Argentina de Dermatología 1-40.
- Martínez, F., García, G. (2003). Efecto cicatrizante del extracto fluido de Romerillo (*Bidens Alba Linné*). Cuba. 2-6.
- Martínez, M., López, M., Betancourt, J., Barcelo, H., Montes, M., Rego, R. (2001). Estudio toxicológico preclínico de la *psidium guajava* L. (guayaba). Revista Cubana de plantas medicinales, versión on-line ISSN 1028-4796.
- Marston, A., Cabo, M., Lubrano, C. (2006). Clarification of the saponin composition of *Ranunculus ficaria tubers*. Natural Product Communications. 27-32.
- Ministerio de Salud del Perú MINSA.(2005)://www.Minsa.gob.pe /estadísticas/nacionaldisa.asp. 22 Oct. 2014.
- McNair, H., Esquivel, B. (1980). Cromatografía Líquida de Alta Presión. OEA. Washington D.C. Monografía U.S.A. 16.
- Millspaugh, Ch. (1974). American Medicinal Plants. Dover Publications Inc. New York-USA. 40-44.
- Molero, J. (1985). Flora del Paraguay Ranunculaceae. Editorial Missouri Botanical Garden. USA.10-25.
- Mostacero, J., Mejía, F., Gamarra, O. (2002). Taxonomía de las Fanerógamas Útiles del Perú. Concytec, 1ra Edición (1), 48-66.
- Muñoz, F. (1996). Plantas Medicinales y Aromáticas. Estudio, cultivo y procesado. Ediciones Mundi - Prensa - España. 61-65.

Murray, S. (1969). Teoría y problemas de estadística. 5ta edición. Editorial. McGraw-Hill. USA. 188 - 200, 344-349.

Nakanishi, K., Goto, T., Ito, S. (1974). Natural Products Chemistry. Vol. I y II, Kodansha Scientific Ltd. Japón. 34-43.

National Advisory Committee for Laboratory Animal Research (2004). NACLAR Issues Guidelines on the Care and Use of Animals for Scientific Purposes in Singapore. 1- 8.

Navarro,A. (2012). Incidencia de infecciones intrahospitalarias en establecimientos de Salud, Perú boletín Epidemiológica 22(05), 91- 96.

Nidhi, S., Vikas, S. (2010). Advancement in Research on *Aconitum sp*- (Ranunculaceae) under Different Area. Institute of Biomedical Sciences 9(4), 411- 427.

Nikhil, V., Shekshavali, P., Dr. I.J. Kuppast. (2017). A review on pharmacological activities of *Naravelia zeylanica*. Res. J. Pharmacology & harmacodynamics. 9(1): 35-38.

OECD. Guidelines for testing of chemicals N° 243. *Acute Toxic Class Method*. [Citado el 17 de diciembre del 2001] Disponible en: [http://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd\\_gl\\_423.pdf](http://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd_gl_423.pdf). 1-14.

Organización Mundial de la Salud. (2000). Situación reglamentaria de los medicamentos herbarios – una reseña mundial. 22 - 26; 41 y 66.

Pérez, L., Alfonso, A., Salas, M., Puente, E., Betancourt, J., Jackson, E., Mora. (2011). Toxicidad aguda oral de *Solanum torvum* Sw. (prendejera). Revista cubana de Plantas Medicinales 16(4), 390-395.

Pérez, A. (1990). plantas medicinales y venenosas de Colombia. Ediciones Triángulo Medellín. 119.

Poletti, A. (1982). Plantas y Flores Medicinales. Ediciones Instituto Parramón S.A. Barcelona-España. 11-12.

Prieto, J., Recio, M., Giner, R. (2003). Pharmacological approach to the pro-and anti-inflammatory effects of *ranunculus sceleratus*L., Journal of Ethnopharmacology 89 , Université Lyon – Francia. 131-137.

Prieto,J., Braca, M., Morelli, I. (2004). A new acylated quercetin glycoside from *Ranunculus lanuginosus*. Fitoterapia. 533-538.

Ragonese, A., (1975). Plantas toxicas para el ganado de la República Argentina . Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria (3), 1-15.

Risco, E., Villa, R., Enriques, A., Cañiguera, S. (2005). Bases químicas y farmacológicas de la utilización de Sangre de Drago. Revista de fitoterapia. 101-114.

Redroban, K. (2012). Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcoholicos de Berro (*Nasturtium officinale*) y Llantén (*Plantago major*) en ratones (*Mus musculus*).Tesis para optar el título de Bioquímico Farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba- Ecuador.

Repetto, M. (1999). Toxicología Fundamental. Ediciones Díaz de Santos S. A. España. 404-411.

Roersch, C. (1994). Plantas Medicinales, en el Sur Andino del Perú. Edición Santo Domingo, República Dominicana vol. I. 1037-1038.

Rojas, N., Avila, R., Villacaqui, E., Neira, E., Ramos, W., Santiago, J. (2011). Tratamiento de quemaduras con películas obtenidas por radiación

gamma que contiene extracto hidroalcohólico de tara (*Caesalpinia spinosa*) en animales de experimentación. Dermatología peruana vol. 21. 06-12.

Salih, A., Omar, A., Mohammad, R., (2015). Dermatological effects of *Nigella sativa*. Dermatological effects of *Nigella sativa*. Journal of Dermatolgy & dermatologic Surgery. 92 - 98.

Shahzad, M., Bashir, A., Uzair, M. (2012). The *Genus Ranunculus*: A Phytochemical and Ethnopharmacological review, Journal of pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 4, Suppl 5. 15-22.

Shanmuga, K., Priya, A., Gnanamani, N., Radhakrishnan, M. (2002). Healing potential of *Datura alba* on burn wounds in albino rats Journal of Ethnopharmacology 83, 193-199

Sharapin, N. (2000). Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos Pub. Convenio Andrés Bello-CYTED. Bogotá-Colombia. 22-23.

Sharifi, R., Kamalinejad, M., Dehpour, A., Tavangar, S., Paknejad, M., Natanzi M., Ghannadian, N., Akbari, M., Pasalar, P. (2012). Effect of topical application of silymarin (*Silybummarianum*) on excision wound healing in albino rats. 583-588.

Shetty, S., Udupa,S., Udupa, L. (2008). Evaluation of antioxidant and wound healing effects of alcoholic and aqueous extract of *Ocimum sanctum Linn* in rats. Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine. (5), 95–101.

Shivananda, B., Nayak, B. (2006). *Cecropia peltata* (*Cecropiaceae*) Has Wound- Healing Potential: A Preclinical Study in a Sprague Dawley Rat Model. Department of Preclinical Sciences. The University of the Indies. 20-26.

Singer, A., Clark, R. (1999). Cutaneous wound healing. The new England Journal of Medicine. 738-746.

Sintes, J. (1975). Curate con las Plantas Medicinales. Editorial Sintes S.A. España. 56-59.

Somashekar, S., Saraswati, U., Laxminarayana, U. (2007). Evaluation of Antioxidant and Wound Healing Effects of Alcoholic and Aqueous Extract of *Ocimum sanctum* Linn in Rats. India. 95-101.

Soriano, M., Bonilla, P., Arroyo, J. (2004). Actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundarios en el extracto etanolico de hojas de *Senecio culcitoides* Weed.. UNMSM Folia dermatol. Peru; 2004; 15(3): 155-159.

Soriano, M., Bonilla, P., Arroyo, J., Pereyra, S. (2004). Aspectos Fitoquimico y actividad cicatrizante de *Senecio culcitoides* Weed. 49-53.

Soukup, J. (1970). Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana y Catálogo de los Géneros. Editorial Salesiana Lima-Perú. 348 y 349.

Soukup, J. (1965). Las Cariofiláceas, Ninféáceas, Ceratofiláceas, Ranunculáceas del Perú, sus Géneros y lista de especies. Revista Biota.VI 45 Lima-Perú. 12-16.

Srivastava, N., Sharma, V., Kamal, B. (2010). Advancement in Research on *Aconitum* sp. (Ranunculaceae) under different area: A review. Biotechnology (4), 411-427.

Tosi, A., Bonora, B., Dall'olio, G. (1990). Quaternary alkaloids in rhizomes of *Ranunculus Serbicus*. Phytochemistry (29): 2389 – 2390.

Trigo, M. (1993). Patología General Veterinaria, 2da Ed. Editorial Interamericana McGraw-Hill, México. 102-121

Valencia, O. (1995). Fundamentos de fitoquímica, 1ra Ed. Editorial Trillas, Mexico. 11-17.

Vargas, C. (2007). Tesis Magister en Recursos Vegetales y terapéuticos. UNMSM, Lima-Perú.

Vaisberg, A., Milla, M., Planas, M., Cordova, J., De Agustin, E., Ferryra, R., Mustiga, M., Carlin, L., Hammond, G. (1989). Taspine is the cicatrizant in Sangre de Drago extracted from *Croton lechleri*. Planta Med. 140 -143.

Wanda, A., Dorsette, M. (2004). Rat models of skin wound healing: A review. Wound Repair and Regeneration, 591-599.

Wang, R., Lechtenberg, M., Sendker, J. (2013). Wound-healing plants from TCM: in vitro investigations on selected TCM plants and their influence on human dermal fibroblasts and keratinocytes. Elsevier volumen (84). 308-317.

Wayne, W. (1998). Bioestadística. Editorial Limusa S.A. de C.V. México. 183-189, 824- 826.

Weberbauer, A. (1945). El mundo vegetal de los Andes Peruanos. Ministerio de Agricultura Lima- Perú. 164, 568.

Wegner, C., Hamburger, M. ( 2000). Tensioactive compounds from the aquatic plant *Ranunculus fluitans* L. (Ranunculaceae). 1454–1464.

Wesam, K., Zahra, H., Naim, Sh., Majid, A. et al. (2016). Phytochemistry, pharmacology, and therapeutic uses of black seed (*Nigella sativa*). Chinese Journal of Natural Medicines 14(10), 732-745



Zhang, L., Yang, Z., Tian, J. ( 2007). Two new indolopyridoquinazoline alkaloidal glycosides from *Ranunculus ternatus*. Chemical & Pharmaceutical Bulletin 55, 1267–1269.

# ANEXO N° 1



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**



## CONSTANCIA N°0016-USM-2002

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal recibida de la Srta. LURDES CONDORI HUANCACURI, estudiante de Farmacia y Bioquímica de la Universidad NORBERT WIENER, ha sido estudiada y determinada como: *Ranunculus praemorsus* H.B.K. ex DC., cuya posición sistemática, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988) es la siguiente:

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB-CLASE: RANUNCULIDAE

ORDEN: RANUNCULALES

FAMILIA: RANUNCULACEAE

GENERO: *Ranunculus*

ESPECIE: *Ranunculus praemorsus* H.B.K.  
ex DC.

Nombre vulgar: "Warancaycho"

Determinada por: Blgo. Severo Baldeón Malpartida.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 22 de Abril de 2002.



(USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María  
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono: (511) 471-0117, 470-4471,  
470-7918

Fax: (511) 265-6819  
e-mail: [museoha@unmsm.edu.pe](mailto:museoha@unmsm.edu.pe)

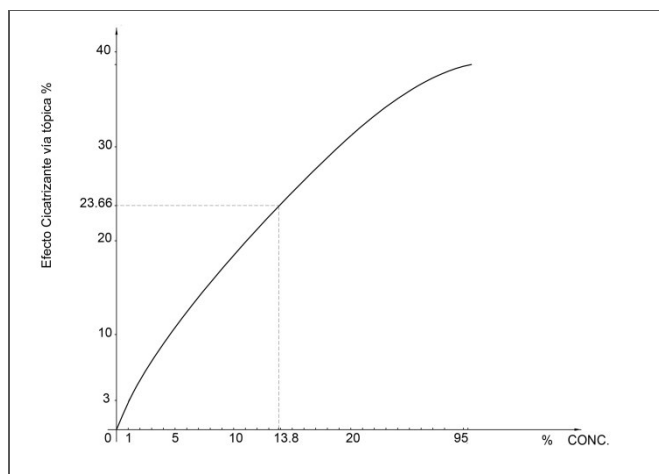
**Anexo 2 Determinación de la concentración efectiva media del extracto hidroalcohólico de *Ranunculus Praemorsus* - por vía tópica durante 11 días.**

Grupos tratados	Diferentes concentraciones del extracto	Día 11 Área de herida (mm2) Eficacia %
Grupo (BC)	Base de crema sin extracto	150.0 ± 26.41 ( 0.00)
Grupo (A)	Base de crema+extracto al 1%	145.5 ± 13.32 (3.00)
Grupo (B)	Base de crema+extracto al 5%	111,5 ± 9.68 (25.66)
Grupo( C)	Base de crema+extracto al 10%	123.5 ± 8.92 (17.66)
Grupo (E)	Base de crema +extracto al 20%	103.0 ± 14.31(31.33)
Grupo Patrón (GP)	Sangre de grado al 95 %	89.0 ± 15.60 (40.66)

**Anexo 2 A Diferentes concentraciones del extracto versus la eficacia en %.**

DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO	DIA 11 ÁREA DE HERIDA (mm2) EFICACIA EN %
1%	3.0
5%	25.66
10%	17.66
20%	31.33
95%	40.66

**Anexo 2 B Concentración efectiva media (CEM) es de 13.8 %.**



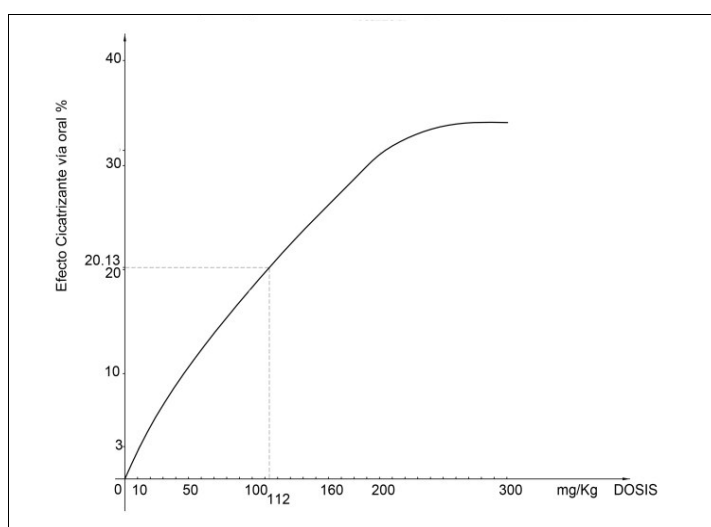
**Anexo 3 Determinación de la dosis efectiva media del extracto hidroalcohólico de *Ranunculus Praemorsus* por vía oral - durante 11 días.**

Grupos tratados	Diferentes concentraciones del extracto	Día 11 Área de herida (mm2)
		Media $\pm$ DE (Eficacia %)
Grupo (S)	Solución de agua destilada 2 mg/kg sin extracto	150.0 $\pm$ 26.41 (0.00)
Grupo (A)	Solución+extracto de 10 mg/kg	145.5 $\pm$ 13.32 (3.00)
Grupo (B)	Solución+extracto de 50 mg/kg	111,5 $\pm$ 9.68 (25.66)
Grupo( C)	Solución+extracto de 100 mg/kg	123.5 $\pm$ 8.92 (17.66)
Grupo (D)	Solución de sangre da grado de 160 mg/kg	115.5 $\pm$ 16.10 (23.00)
<b>Grupo (E)</b>	<b>Solución +extracto de 200mg/kg</b>	<b>103.0 <math>\pm</math> 14.31 (31.33)</b>

**Anexo 3 A Diferentes dosis efectiva del extracto versus la eficacia.**

DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO	DIA 11 ÁREA DE HERIDA (mm2) EFICACIA EN %
10 mg/kg	3.0
50 mg/kg	25.66
100 mg/kg	17.66
160 mg/kg	23.00
200 mg/kg	31.33

**Anexo 3 B Dosis efectiva media (DEM) es de 112 mg/kg**



## ANALISIS ESTADISTICO

### Anexo 4 Distribución de Grupos y medición del área en mm<sup>2</sup> de las heridas para el experimento en el 1er día

MUESTRA N°	Grupo Control (GC)	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C	GRUPO D	GRUPO E	GRUPO F (EXTRACTO DE <i>RANUNCULU</i> <i>S P.</i>	GRUPO PATRÓN (GP)
01	440	365	345	285	285	395	260	345
02	335	475	275	310	330	300	235	275
03	325	285	295	300	265	380	235	260
04	485	305	300	405	235	245	285	255
05	445	275	245	345	235	330	265	335
06	340	315	315	215	340	340	355	315
07	325	315	380	325	370	305	295	355
08	410	280	395	400	355	370	285	400
09	295	365	365	270	285	340	310	365
10	345	270	335	310	285	315	270	315
Promedio	374.50	325.00	325.00	316.50	298.50	332.00	279.50	322.00

Fuente: Elaboración propia

**Anexo 5 Distribución de Grupos y medición del área en mm<sup>2</sup> de las heridas para el experimento en el 5to día**

MUESTRA N°	Grupo Control (GC)	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C	GRUPO D	GRUP O E	GRUPO F (EXTRACTO DE <i>RANUNCULU</i> <i>S P.</i>	GRUPO PATRÓN (GP)
01	230	270	275	225	185	295	210	230
02	230	285	240	235	195	235	205	165
03	345	250	260	250	140	325	230	185
04	345	245	230	235	245	245	225	175
05	255	235	285	200	130	215	175	205
06	305	320	310	235	155	255	180	235
07	365	320	270	195	170	255	240	195
08	295	305	245	205	180	295	180	160
09	285	230	280	210	195	255	210	175
10	270	250	275	245	225	245	180	160
Promedio	292.50	271.00	267.00	223.50	182.00	262.00	203.50	188.50

Fuente: Elaboración propia

**Anexo 6 Distribución de Grupos y medición del área en mm<sup>2</sup> de las heridas para el  
el experimento en el 11avo día**

MUESTRA N°	Grupo Control (GC)	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C	GRUPO D	GRUPO E	GRUPO F (EXTRACT O DE <i>RANUNCU LUS P.</i>	GRUPO PATRÓN (GP)
01	170	140	115	125	80	95	80	125
02	140	115	120	130	100	125	80	105
03	100	115	100	100	90	115	75	70
04	235	165	110	125	90	75	110	100
05	125	150	100	110	105	100	115	115
06	175	145	130	140	100	140	60	65
07	145	160	100	135	100	140	90	65
08	130	165	125	135	155	115	95	75
09	130	145	125	120	105	105	125	95
10	150	155	90	115	105	145	125	75
Promedio	150.00	145.50	111.50	123.50	103.00	115.50	95.50	89.00

Fuente: Elaboración propia

Los datos obtenidos en cada ensayo fueron registrados con los cuales se confeccionaron la base de datos

### Anexo 7 Estadísticos de la actividad cicatrizante al 11avo día

Tratamiento	N	Media	Desviación Estándar	Error Típico	Eficacia
Grupo Control (GC)	10	150.0	36.97	11.70	0.00
GRUPO A	10	145.5	18.23	5.77	3.00
GRUPO B	10	111.5	13.55	4.29	25.66
GRUPO C	10	123.5	12.48	3.95	17.66
GRUPO D	10	103.0	20.03	6.34	23.00
GRUPO E	10	115.5	22.55	7.14	31.33
GRUPO F EXTRACTO DE RANUNCULUS P.	10	.5	22.42	7.09	36.33
GRUPO PATRON	10	89.0	21.83	6.91	40.66

Fuente: Elaboración propia

A la base de datos se le aplicaron los estadígrafos descriptivos media, desviación estándar, error típico. Se utilizó el paquete estadístico MINITAB, versión 17



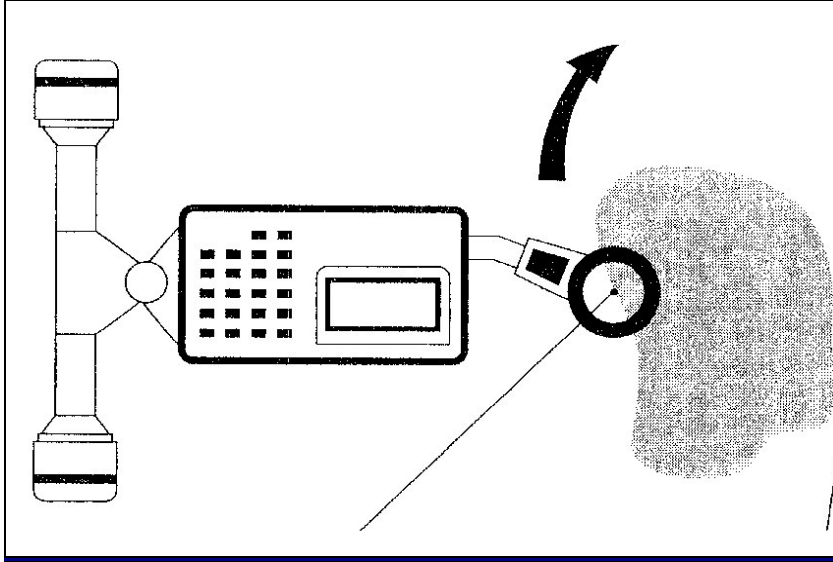
**Anexo 8 Comparación estadística mediante la Prueba de T – Student de los resultados obtenidos entre los diferentes grupos tratados de ratas.**

Tratamiento	Grupos	Diferencia	t	Signific. p	95% intervalo de confianza para la diferencia	
					Límite Inferior	Límite Superior
Grupo Control (GC)	Grupo A	4.50	0.33	-0.749	-24.60	33.60
	Grupo B	38.50	2.90	0.001	10.60	66.40
	Grupo C	26.50	2.01	0.060	-1.20	54.20
	Grupo D	47.00	3.34	0.004	17.40	76.70
	Grupo E	34.50	2.39	0.028	4.10	64.90
	Grupo F	54.50	3.78	0.000	24.20	84.80
	Grupo P	61.00	4.25	0.000	30.90	91.10
Grupo A	Grupo GC	-4.50	-0.35	0.734	-31.90	22.90
	Grupo B	30.00	4.18	0.001	14.91	45.09
	Grupo C	22.00	3.15	0.006	7.32	36.68
	Grupo D	42.50	4.96	0.000	24.71	60.49
	Grupo E	30.00	3.27	0.004	10.74	49.26
	Grupo F	50.00	5.47	0.000	30.80	69.20
	Grupo P	56.50	6.28	0.000	37.60	75.40
Grupo B	Grupo GC	-38.50	-3.09	0.006	-64.7	-12.3
	Grupo A	-34.00	-4.73	0.000	-49.09	-18.91
	Grupo C	-12.00	-2.06	0.054	-24.24	0.24
	Grupo D	8.50	1.11	0.280	-7.57	24.57
	Grupo E	-4.00	-0.6	0.636	-21.48	13.48
	Grupo F	16.00	1.93	0.069	-1.40	33.40
	Grupo P	22.50	2.77	0.013	5.43	39.57
Grupo C	Grupo GC	-26.50	-2.15	0.046	-52.40	-0.60
	Grupo A	-22.00	-3.15	0.006	-36.68	-7.32
	Grupo B	12.00	2.06	0.054	-0.24	24.24
	Grupo D	20.50	2.75	0.013	4.82	36.18
	Grupo E	8.00	0.98	0.339	-9.12	25.12
	Grupo F	22.00	3.45	0.003	10.95	45.05
	Grupo P	34.50	4.34	0.000	17.79	51.21
Grupo D	Grupo GC	-47.00	-3.53	0.002	-74.90	-19.10
	Grupo A	-42.50	-4.96	0.000	-60.49	-24.51
	Grupo B	-8.50	-1.11	0.281	-24.57	7.57
	Grupo C	-20.50	-2.75	0.013	-36.18	-4.82
	Grupo E	-12.50	-1.31	0.206	-32.54	7.54
	Grupo F	7.50	0.79	0.44	-12.47	27.47
	Grupo P	14.00	1.49	0.152	-5.68	33.68
Grupo E	Grupo GC	-34.50	-2.52	0.021	-63.3	-5.70
	Grupo A	-30.00	-3.27	0.004	-49.26	-10.74
	Grupo B	4.00	0.48	0.636	-13.48	21.48
	Grupo C	-8.00	-0.98	0.339	-25.12	9.12
	Grupo D	12.50	1.31	0.206	-7.54	32.54
	Grupo F	20.00	1.99	0.062	-1.10	41.10
	Grupo P	26.50	2.67	0.016	5.65	47.35
Grupo F	Grupo GC	54.50	-3.99	0.001	-83.20	-25.80
	Grupo A	-50.00	-5.47	0.000	-69.20	-30.80
	Grupo B	-16.00	-1.93	0.069	-33.40	1.40
	Grupo C	-28.00	-3.45	0.003	-45.05	-10.96
	Grupo D	-7.50	-0.79	0.440	-27.47	12.47
	Grupo E	-20.00	-1.99	0.062	-41.10	1.10
	Grupo P	6.50	0.66	0.520	-14.29	27.29

Grupo Patrón	Grupo GC	-61.00	-4.49	0.000	-89.50	-32.50
	Grupo A	-56.50	-6.28	0.000	-75.40	-37.60
	Grupo B	-22.50	-2.76	0.013	-39.61	-5.39
	Grupo C	-34.50	-4.34	0.000	-51.21	-17.79
	Grupo D	-14.00	-1.49	0.152	-33.61	-5.68
	Grupo E	-26.50	-2.67	0.016	-47.35	-5.65
	Grupo F	-6.50	-0.66	0.520	-27.29	14.29

Para analizar los datos de los diferentes grupos se utilizó la prueba T-Student mediante el paquete estadístico MINITAB, versión 17

El anexo 8 muestra la comparación estadística mediante la prueba T – Student, de los resultados obtenidos entre los diferentes grupos tratados, observándose que existe una diferencia significativa  $P < 0.05$



**Fotografía N°1:** Forma de utilización de Planímetro  
([www.slideshare.net/egfuentes/lab-4-cons-suelo-planimetro-presentation](http://www.slideshare.net/egfuentes/lab-4-cons-suelo-planimetro-presentation))



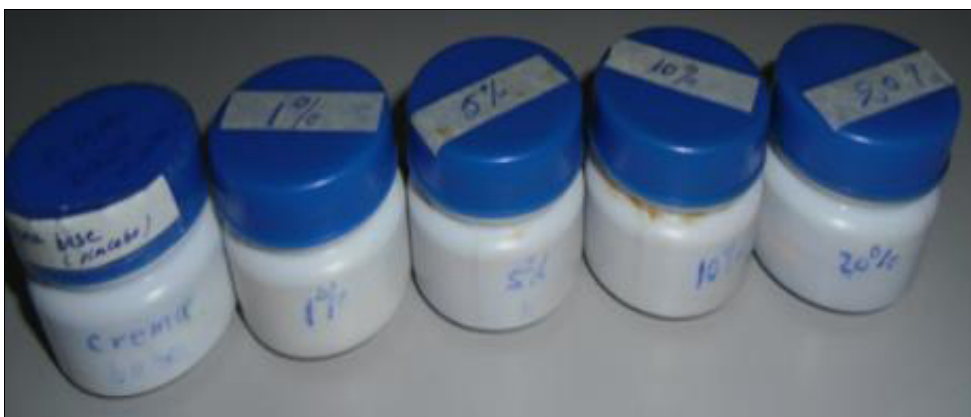
**Fotografía 2.** El instrumento usado es el Planímetro Digital Placon, marca KOIZUMI, Modelo KP-90N fabricado por Fuji Corona Japón



**Fotografía N°3:** Fraccionamiento del extracto hidroalcohólico de *Ranunculus praemorsus* H.B.K ex DC

#### **Composición de crema base.**

En dos beaker de 250 ml se colocó por separado los componentes de la fase acuosa (propilenglicol) y oleosa (cera y vaselina). Se calentó ambas fases por separado a una temperatura entre 75° y 80°C ; se vertió la fase acuosa sobre la fase oleosa y se homogenizó vigorosamente en los primeros minutos; después se mantuvo en agitación moderada y constante hasta el total enfriamiento. Luego, se añadió el extracto hidroalcohólico de *Ranunculus praemorsus*, a diferentes concentraciones: 1%, 5%, 10% y 20% y se rotuló como podemos ver en la siguiente fotografía.



**Fotografía N°4:** Crema base y el extracto más crema base de diferentes concentraciones.



**Fotografía N°5:** Depilación de las ratas con 24 horas de anticipación



**Fotografía N°6** Incisión de la herida circular en ratas.



**Fotografía N°7** Administración tópica de las cremas a diferentes concentraciones del extracto y dosis por vía oral.



**Fotografía N°8** Tratamiento que recibe por vía tópica el primer día.





**Fotografía N°9** Tratamiento que recibe por vía tópica al 5to día.



**Fotografía N°10** Tratamiento que recibe por vía tópica al 11vo día.



**Fotografía N°11** Obtención de la muestra de tejidos con cicatrices para su evaluación por cortes histológicos en ratas tratados con diferentes concentraciones del extracto.